

**Bitenčevi
živilski dnevi
2025**

32

**KAJ BOMO JEDLI JUTRI –
HRANA V TRAJNOSTNIH PREHRANSKIH SISTEMIH**

**Ljubljana
5. junij 2025**

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

in

SLOVENSKO PREHRANSKO DRUŠTVO

**KAJ BOMO JEDLI JUTRI –
HRANA V TRAJNOSTNIH PREHRANSKIH SISTEMIH**

32. BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2025

**WHAT WILL WE EAT TOMORROW –
FOOD IN SUSTAINABLE FOOD SYSTEMS**

**32nd FOOD TECHNOLOGY DAYS 2025
dedicated to Prof. F. Bitenc**

5. junij 2025

Ljubljana

uredili:

Lea DEMŠAR
Tomaž POLAK
Lina BURKAN MAKIVIĆ

LJUBLJANA, 2025

BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2025:	Tematski pregled s področja znanosti in tehnologije živil ter prehrane za študij po diplomih.
FOOD TECHNOLOGY DAYS 2025:	Thematic survey of topics in food science and technology and nutrition for postgraduate studies.

PROGRAMSKI ODBOR:

prof. dr. Tomaž POLAK
 prof. dr. Blaž CIGIČ
 prof. dr. Barbara JERŠEK
 prof. dr. Nataša POKLAR ULRIH
 prof. dr. Sonja SMOLE MOŽINA
 prof. dr. Rajko VIDRIH
 prof. dr. Lea DEMŠAR
 doc. dr. Tanja PAJK ŽONTAR
 prof. dr. Tatjana KOŠMERL
 izr. prof. dr. Mojca KOROŠEC

ORGANIZACIJSKI ODBOR:

prof. dr. Tomaž POLAK
 izr. prof. dr. Mojca KOROŠEC
 prof. dr. Lea DEMŠAR
 Lina BURKAN MAKIVIČ, univ. dipl. ing.
 izr. prof. dr. Jasna BERTONCELJ
 doc. dr. Mateja LUŠNIC POLAK
 asist. dr. Blaž FERJANČIČ
 Anja BOLHA, mag. inž. preh.
 Mojca KUCHAR, mag. inž. živil.
 Marinka JAN, univ. dipl. ing.
 Andrej ŽIVKOVIČ, univ. dipl. ing.

Vsi prispevki so recenzirani.

Založil: Biotehniška fakulteta
 Oddelek za živilstvo
 Jamnikarjeva 101
 1000 Ljubljana

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
[COBISS.SI-ID 237807875](https://nuk.ub.uni-lj.si/COBISS.SI-ID/237807875)
 ISBN 978-961-6908-34-4 (PDF)

Dostopno na: <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=169506>

KAZALO VSEBINE

Uvodna beseda	VIII
In memoriam prof. dr. Janez Hribar (1947-2022)	IX
dr. Rajko Vidrih	
In memoriam prof. dr. Polona Jamnik (1973-2025)	X
dr. Sonja Smole Možina	
Vabljen plenarno predavanje: Prihodnost hrane in izzivi trajnostnega preoblikovanja prehranskih sistemov do leta 2050	1
dr. Blaža Nahtigal	
Predstavitev projekta ERA Chair - Foodomics	4
dr. Urška Vrhovšek, dr. Nataša Poklar Ulrih	
Personalizirana medicina za zdravo staranje: interdisciplinarni pristop k staranju	8
dr. Eva Kočar in sod.	
Vabljen predavanje: Hibridni mesni izdelki – najboljše iz obeh svetov	9
dr. Mateja Lušnic Polak, dr. Tomaž Polak, dr. Lea Demšar, Mojca Kuhar	
Uporaba bakterij <i>B. subtilis</i> PS-216 za izboljšanje prireje, varnosti in kakovosti piščančjega mesa	19
dr. Katarina Šimunović, dr. Sonja Smole Možina, dr. Ines Mandić Mulec	
Delamaris – Zgodba o turistični pašteti in solate	29
mag. Monika Marin, Alja Krnel, Eva Hrvatin	
“Trajnostna čokolada”	40
Monika Kočar	
Ali rastlinski nadomestki sira lahko hranilno in senzorično nadomestijo sir?	52
Tina Prevc, dr. Andreja Čanžek Majhenič, dr. Alenka Levart, dr. Janez Salobir, dr. Tanja Pajk Žontar	
Vabljen predavanje: Procesiranje žit in stročnic za proizvodnjo rastlinskih beljakovin	65
dr. Petra Terpinč, Andrej Živković, dr. Tomaž Požrl	
Ohranitev tradicionalnih fermentacij živil z inovativnim pristopom: primer jabolčno vino	80
dr. Neža Čadež in dr. Tatjana Košmerl	
Pomen rastlinskih arom v prehrani človeka	89
Erika Jesenko in dr. Emil Zlatič	
Vpliv poliaminov in njihovih derivatov na oksidativno stabilnost olj in emulzij	101
Varineja Drašler, dr. Tomaž Polak, dr. Bogdan Štefane, dr. Helena Abramovič, dr. Blaž Cigić	
Prehranska obogatitev grahove moke z mlečnokislinsko fermentacijo	113
Tina Šaula, dr. Blaž Cigić, dr. Polona Jamnik, dr. Irena Kralj Cigić, dr. Nataša Poklar Ulrih, dr. Tomaž Požrl, dr. Gregor Marolt	

Vabljen predavanje: Kruh naš vsakdanji – funkcionalno in trajnostno živilo prihodnosti	124
dr. Boris Kovač, dr. Monika Šporin, dr. Sonja Smole Možina	
Vloga sistema organizacije šolske prehrane pri oblikovanju bolj trajnostnih prehranskih navad otrok	137
Anja Bolha, dr. Blaž Ferjančič, dr. Jasna Bertoneclj, dr. Aleš Kuhar, dr. Mojca Korošec	
Rastlinski nadomestki mleka in mlečnih izdelkov: pogled v poznavanje, sprejemanje in motivacijo za nakup med odraslimi potrošniki v Sloveniji	149
Kaja Kranjc, dr. Andreja Čanžek Majhenič, dr. Tanja Pajk Žontar	
Varna hrana v dobi mikroplastike	160
dr. Anja Klančnik, Živa Kolenc, Tina Šaula, dr. Sonja Smole Možina, dr. Manca Kovač Viršek, dr. Andreja Rajković	
Preskrbljenost prebivalcev Slovenije z ustrezno zalogo hrane	170
Nina Križnik, dr. Jasna Bertoneclj, dr. Tanja Pajk Žontar	
Vabljen predavanje: Maščobe – tehnološki in prehranski vidik	178
dr. Rajko Vidrih, dr. Tomaž Polak, dr. Blaž Cigić	
Od živil do krmil – možnosti uporabe nekdanjih živil kot krmil za živali	193
dr. Alenka Levart, dr. Ilja Gasan Osojnik Črnivec, dr. Tanja Pajk Žontar, dr. Breda Jakovac Strajn, dr. Gabrijela Tavčar Kalcher, dr. Tatjana Pirman, dr. Andrej Lavrenčič, dr. Vida Rezar, dr. Luka Juvančič, Matej Fatur, dr. Janez Salobir	
Osnove hiperspektralnega slikanja in njegova uporaba v živilstvu	201
Belmin Lisičić, dr. Nataša Poklar Urlih, dr. Matija Milanič, dr. Iztok Prislan	
Mikrobiom fermentiranih hišnih črčkov in ličink mokaarja	209
Zala Plateis, dr. Polona Jamnik, Nik Mahnič, dr. Nataša Toplak, dr. Simon Koren, dr. Nataša Poklar Ulrih, dr. Barbara Jeršek	
Izzivi trajnostne pridelave in predelave hrane v Sloveniji z vizijo za prihodnost	217
dr. Petra Medved Djurašinović	
Predstavitev magistrskih nalog	
Prehranske in fizikalno-kemijske lastnosti izbranega peciva z dodatkom spiruline	219
Pina Arnšek in dr. Mateja Lušnic Polak	
Obogatitev jogurta s plodovi rastline Hottentot fig (<i>Carpobrotus edulis</i> L.)	224
dr. Andreja Čanžek Majhenič in Kim Bratkič	
Vpliv vodnih izvlečkov bukovega ostrigarja <i>Pleurotus ostreatus</i> na mikrobiološko obstojnost kruha	231
Jerneja Burgar, dr. Meta Sterniša, dr. Jana Zahorec, dr. Dragana Šoronja-Simović, dr. Jerica Sabotič, dr. Sonja Smole Možina in dr. Anja Klančnik	
Vpliv transglutaminaz na teksturne lastnosti mesnih emulzij	236
Tina Gregorčič in dr. Tomaž Polak	

Primerjava prehranjevalnih navad otrok in mladostnikov v Sloveniji in Vojvodini	241
Sabina Hadalin, dr. Andrej Ovca, Zita Šereš in dr. Sonja Smole Možina	
Ocena mikrobiološke varnosti in senzorične kakovosti žitnih izdelkov za zajtrk po preteku roka uporabnosti	246
Kaja Ivanc, dr. Mojca Korošec, dr. Lea Demšar in dr. Barbara Jeršek	
Primerjava metod za ocenjevanje dnevnega vnosa soli	252
Alja Javornik, Anja Bolha, dr. Mateja Lušnic Polak in dr. Mojca Korošec	
Karakterizacija mlevskih frakcij paradižnikove pogače in njihov vpliv na texturne lastnosti namazov iz stročnic	258
Andrijana Kjiroska, dr. Mateja Lušnic Polak in dr. Blaž Cigić	
Povečanje učinka antibiotikov na bakterije <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> z elektroporacijo	264
Polona Komel, dr. Žana Lovšin, dr. Tadej Kotnik in dr. Anja Klančnik	
Maščobnokislinska sestava in fazni prehodi čokolade	268
Tomaž Kopač, dr. Rajko Vidrih in dr. Iztok Prislan	
Določanje mikrobnih združb na mikroplastiki v morski vodi in školjkah	273
Vanja Koroša, Živa Kolenc, dr. Nicol Janecko, dr. Manca Kovač Viršek in dr. Anja Klančnik	
Protimikrobna aktivnost embalažnih folij s premazom hitozana in kombinacijo rastlinskih izvlečkov	277
Tina Krajnc, dr. Lidija Fras Zemljič in dr. Sonja Smole Možina	
Tvorba biogenih aminov v sušenih salamah med skladiščenjem pri sobni temperaturi	282
Marija Maja Kresnik in dr. Lea Demšar	
Vpliv proteazne aktivnosti bakterij <i>Pseudomonas</i> na preživetje in rast patogenih bakterij, prenosljivih s hrano	286
Sonja Marguč, Mojca Kuhar, dr. Tomaž Polak, dr. Sonja Smole Možina in dr. Meta Sterniša	
Protimikrobno delovanje biopolimernih premazov za razvoj aktivne embalaže	291
Eva Mežnar, dr. Meta Sterniša, dr. Lidija Fras Zemljič, dr. Sonja Smole Možina	
Med občutljivostjo in intenzivnostjo: vpliv senzoričnih sposobnosti na doživljanje okusov	296
Elena Molac, Anja Bolha in dr. Mojca Korošec	
Optimizacija izolacije in analiza zunajceličnega matriksa bakterije <i>Campylobacter jejuni</i>	301
Natalija Pavlinjek, dr. Blaž Jug, dr. Jerica Sabotič in dr. Anja Klančnik	
Adhezija plesni vrste <i>Penicillium expansum</i>	305
Brina Pavlovič, Nik Mahnič, dr. Rajko Vidrih, dr. Klemen Bohinc, dr. Roman Štukelj, dr. Minka Kovač, dr. Marjan Bele in dr. Barbara Jeršek	
Modulacija adhezije bakterij <i>Campylobacter</i> in <i>Listeria</i> na modelnih površinah	311
Maria Pesterean, dr. Blaž Jug, dr. Jerica Sabotič in dr. Anja Klančnik	
Optična volumetrična analiza obrokov	315
Alen Pungertnik, dr. Matija Milanič, dr. Evgen Benedik, dr. Iztok Prislan	

Poliamini, biogeni amini in proste fenolne spojine v tempehu in nattu - vpliv fermentacije in shranjevanja	319
Katarina Barbara Robič, Varineja Drašler in dr. Blaž Cigić	
Rast plesni vrste <i>Aspergillus flavus</i> in tvorba aflatoksina B1 v značilnih razmerah za izdelavo suhih salam	325
Zala Šturm, Iva Zahija Jazbec, dr. Lea Demšar, dr. Tomaž Polak in dr. Barbara Jeršek	
Tehnologija izdelave liofilizirane ovčje albuminske skute ter njena uporabnost v prehrani športnikov in gastronomiji	333
dr. Andreja Čanžek Majhenič in Maruša Štangar	
Primerjava tradicionalnih čevapčičev s hibridnimi mesnimi pripravki	340
Nikita Trček in dr. Lea Demšar	
Zaključni pisni izdelki na Oddelku za živilstvo s področja živilstva in prehrane v letih 2022 – 2024	346
Lina Burkan Makivić	
Doktorske disertacije s področja živilstva in prehrane v letih 2022 – 2024	352
Imensko kazalo doktorandov in njihovih mentorjev ter somentorjev	361
Predmetno kazalo doktorskih disertacij s področja živilstva in prehrane v letih 2022 – 2024	362

UVODNA BESEDA

Letošnje, 32. Bitenčeve živilske dneve organiziramo pod naslovom Kaj bomo jedli jutri – hrana v trajnostnih prehranskih sistemih. Ta dogodek, ki že pol stoletja združuje strokovnjake, raziskovalce in študente živilstva, ostaja ključna platforma za predstavitev najnovejših znanstvenih spoznanj in praktičnih rešitev v prehranskem sektorju.

Program odraža izjemno dinamičnost in kompleksnost sodobnega živilstva, kjer trajnost ni več izbira, temveč nuja. V uvodnem vabljenem predavanju bomo osvetlili prihodnost prehrane do leta 2050 ter preoblikovanje prehranskih sistemov z vidika okoljske, družbene in ekonomske vzdržnosti. Predstavljen bo tudi projekt ERA Chair – Foodomics, ki kaže na pomen interdisciplinarnega povezovanja in sodobnih pristopov na področju hrane.

V štirih vsebinskih sekcijah bomo obravnavali ključne trajnostne prehranske vidike:

- Sekcija I – Hibridna živila se posveča inovativnim rešitvam, ki združujejo lastnosti rastlinskih in živalskih sestavin. Med predstavitvami izstopajo hibridni mesni izdelki kot primer kompromisa med okusom, kakovostjo in trajnostjo, ter uporaba bakterije *Bacillus subtilis* za izboljšanje kakovosti perutninskega mesa. Predstavljeni bodo tudi primeri dobrih praks iz industrije, kot sta Delamaris in Incom.
- Sekcija II – Rastlinska živila poudarja pomen žit, stročnic in tradicionalno fermentiranih izdelkov, ki ob inovativni predelavi lahko tvorijo osnovo prehranskega sistema z manjšim okoljskim odtisom. Obravnavali bomo tudi pomen rastlinskih arom in stabilnosti olj ter predstavili možnosti obogatitve grahovih izdelkov s fermentacijo.
- Sekcija III – Prehrana se osredotoča na uporabnika – potrošnika. Dotaknili se bomo trajnostne vloge kruha, pomena šolske prehrane pri oblikovanju prehranskih navad, sprejemanja rastlinskih alternativ mleku in mlečnim izdelkom, varnosti hrane v dobi mikroplastike ter prehranske preskrbljenosti prebivalstva.
- Sekcija IV – Alternativa nas vabi k razmisleku o alternativnih virih in tehnologijah – od novih pristopov k uživanju maščob, ponovni uporabi živil kot krme, do naprednih tehnologij, kot je hiperspektralno slikanje, ter raziskav fermentiranih žuželk kot vira hranil.

V zaključku bomo prisluhnili predstavitvi vloge SRIP Hrana pri strateškem razvoju prehranskega sektorja v Sloveniji.

Ob tej priložnosti z iskreno hvaležnostjo in spoštovanjem izrekamo tudi spomin zaslužnemu prof. dr. Janezu Hribarju in prof. dr. Poloni Jamnik, ki sta pomembno zaznamovala področje živilstva pri nas in s svojim znanjem ter predanostjo pustila neizbrisni pečat.

Zbornik prinaša bogat pregled aktualnih znanstvenih in strokovnih prispevkov ter naj služi kot vir navdiha, izmenjave znanja in nadaljnjega strokovnega povezovanja.

Organizacijski odbor
32. Bitenčevi živilski dnevi
Oddelek za živilstvo
Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani

In memoriam prof. dr. Janez Hribar (1947-2022)

Prof. dr. Janez Hribar je diplomiral na Biotehniški fakulteti leta 1971 in se nato takoj zaposlil na matični fakulteti – sprva kot raziskovalec, pozneje kot asistent. Magistrski študij je opravil na Univerzi v Zagrebu, po doktoratu na Biotehniški fakulteti pa je bil izvoljen v naziv docenta za področje predelave in skladiščenja sadja in vrtnin. Od leta 2000 je bil redni profesor za širše področje tehnologije predelave rastlinskih živil.

Bil je predan pedagog in raziskovalec na področju živilstva. Sodeloval je pri številnih projektih, ki so pomembno prispevali k razvoju stroke v Sloveniji in širše. Že z diplomskim delom se je vključil v ameriško-slovenski projekt »Postharvest behaviour of apples and pears«, ki se je ukvarjal s problematiko poobiranih tehnologij. Temu področju se je posvečal tudi po doktoratu kot nacionalni koordinator v mednarodnih projektih FLAIR in COST. V okviru delovne skupine za sadjarstvo ALPE JADRAN je bil koordinator za področje skladiščenja in predelave sadja.

Osrednji del njegovega raziskovalnega dela je obravnaval problematiko skladiščenja sadja in vrtnin v spremenjeni atmosferi z zelo nizko vsebnostjo kisika, ki lahko vodi do pojava anaerobnega metabolizma. Rezultati njegovega raziskovalnega dela so objavljeni v več kot 80 znanstvenih člankih, številnih strokovnih prispevkih in predstavljani na številnih vabljenih predavanjih in referatih na znanstvenih kongresih doma in v tujini. Njegova bibliografija obsega več kot 800 enot.

Sodeloval je pri univerzitetnem študiju Živilske tehnologije (danes Živilstvo in prehrana) ter pri študiju agronomije in hortikulture na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, na Fakulteti za biosistemske vede Univerze v Mariboru, na Kmetijski fakulteti v Banja Luki ter na Univerzi Josipa Jurja Strossmayerja v Osijeku. Bil je mentor več kot 100 diplomantom, med njimi tudi prejemnikom Prešernove nagrade in Bitenčeve nagrade za najboljšo diplomsko delo. Bil je mentor tudi pri znanstvenih magisterijih, doktoratih in mladem raziskovalcem.

Veliko časa je posvečal strokovnemu delu – predsedoval je številnim komisijam za senzorično ocenjevanje destilatov, sadnih sokov in drugih izdelkov rastlinskega izvora, tako v Sloveniji kot v tujini: v Avstriji, na Hrvaškem in v Srbiji. Bil je cenjen član domačih in mednarodnih strokovnih in znanstvenih združenj, med drugim: International Society for Horticultural Science, American Society of Horticultural Science, Sadjarskega društva Slovenije in Slovenskega prehranskega društva. Deloval je tudi kot član uredniškega odbora revije Food Technology and Biotechnology.

Na Biotehniški fakulteti je bil večkrat predstojnik Oddelka za živilstvo, več mandatov je opravljal funkcijo prodekana fakultete ter bil dvakrat izvoljen za dekana. Na Univerzi v Ljubljani je vodil številne komisije, pomembne za njen razvoj: Komisijo za sistemizacijo, Komisijo za delitev sredstev ter dvanajst let kot član in predsednik Upravnega odbora Univerze v Ljubljani. Na Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano je dolga leta deloval kot član in vodja Sveta za varno hrano. Za svoje delo je prejel številna priznanja: Zlato plaketo Univerze v Ljubljani, Jesenkovo priznanje Biotehniške fakultete za življenjsko delo, nagrado Nemškega združenja proizvajalcev sadnih sokov, Kip sejalcu za dolgoletno sodelovanje s Pomurskim sejmom, priznanja Univerze v Zagrebu, Osijeku in Banja Luki, priznanje Društva sommelier Slovenije ter Pirčevo priznanje za delo na področju sadjarstva.

Bil je energičen in načelen sogovornik, poln življenjske energije. Njegov hobi je bilo gradbeništvo – znanje, ki ga je mojstrsko uporabljal tako doma kot pri službenih projektih. Tudi ta dvorana, v kateri se nahajamo, je del njegovih gradbenih dosežkov. Velikokrat smo ga slišali reči: »Malta lepo diši.« Ob tej priložnosti se Janiju, kot smo ga prijatelji in sodelavci imenovali, iskreno zahvaljujemo za vse, kar je storil za našo katedro, oddelek, Biotehniško fakulteto in Univerzo v Ljubljani. Njegov pečat je neizbrisen.

prof. dr. Rajko Vidrih,
v imenu sodelavcev Katedre tehnologije rastlinskih živil in vino in Oddelka za živilstvo

In memoriam prof. dr. Polona Jamnik (1973-2025)

Ob srečanjih, ki s svojim imenom od leta 1978 dalje nosijo trajni spomin na prof. Franca Bitenca, nekdanjega profesorja, predstojnika oddelka in dekana BF, se spominjamo sodelavcev, ki so odšli – letos v marcu nas je po hudi bolezni zapustila dolgoletna sodelavka Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil, prof. dr. Polona Jamnik – profesorica biotehnologije, dolgoletna članica in v zadnjih dveh letih aktivnega dela predsednica kolegija študija biotehnologije na BF in predsednica senata za dodiplomski študij UL – če izpostavim le dve od njenih najpomembnejših institucionalnih funkcij, ki v delovanju fakultete in univerze puščata trajni pečat.

Profesorica Polona Jamnik pa je bila predvsem in najprej izjemno predana pedagoginja. Delo s svojimi študenti je vsa leta od začetkov asistentskega dela v začetku milenija pa kot redna profesorica in mentorica številnim študentom biotehnologije do zadnjih dni aktivnega dela postavljala na prvo mesto. Bila je ena od tistih učiteljev, ki je znala svojo predanost in navdušenje nad biotehnoškimi izzivi, tudi na področju hrane in prehrane, vsak dan prenašati na študente, da so jim bili pripravljeni posvečati svojo mladostno energijo. To je zelo zahtevno delo, še posebej v časih, ko se zdi, da postajajo druga področja za mlade hitreje dosegljiva in zato privlačnejša kot študij. Za osnovanja novih področij, laboratorijev in opreme ter vpeljevanje hitro razvijajočih se metodologij dela in pridobivanje novih spoznanj z njimi pa potrebno ogromno znanja, truda in stalnega dela. Polona Jamnik je imela vse to - v razvoju svoje raziskovalne in ob tem tudi pedagoške kariere se je specializirala za področje omskih tehnik, še posebej za proteomiko in mehanizme delovanja bioaktivnih snovi v procesih oksidativnega stresa v kvasni celici kot modelnem evkariontskem organizmu. Proteomske analize je uspešno prenašala tudi na področje biosinteze sekundarnih metabolitov in živilske biotehnologije. V okviru teh področij so nastajale tudi številne študentske diplomske (47), magistrske (48) in doktorske (5) naloge pod mentorstvom ali somentorstvom prof. Jamnik. Številnim mladim biotehnologom je s svojim znanjem, izkušnjam in predanostjo odpirala nove poti v raziskovalnem delu, ki ga uspešno nadaljujejo. Študenti so ji naklonjenost vračali. Dvakrat so jo izbrali za najboljšega pedagoga - na študiju biotehnologije v št. letu 2011/2012 in na študiju živilstva in prehrane v št. l. 2014/15. Leta 2019 je prejela priznanje BF za vzorno pedagoško, raziskovalno in strokovno delo na študiju biotehnologije. Raziskovalno je sodelovala pri več kot 20 nacionalnih in mednarodnih znanstveno-raziskovalnih projektih, pri nekaterih projektih ARIS je bila vodja, pri mednarodnem projektu ERANET SAFEFOODERA pa slovenska koordinatorica projekta. Vzpostavila je aktivno sodelovanje s številnimi raziskovalnimi inštitucijami doma in v tujini, npr. s Fakulteto za farmacijo, Medicinsko fakulteto, IJS in različnimi biotehnoškimi podjetji v Sloveniji ter inštitucijami v tujini, kot npr. z Univerzo v Zagrebu in Reki, Univerzo v Trstu in drugimi. V okviru znanstveno-raziskovalnih aktivnosti je dr. Jamnikova samostojno ali v soavtorstvu objavila 51 originalnih in 7 preglednih znanstvenih člankov in vrsto študijskih gradiv za svoje študente. Večkrat je kot predavateljica ali članica programskega odbora sodelovala tudi pri oblikovanju Bitenčevih živilskih dnevov. Letos ji je usoda to onemogočila, a spoštovana kolegica, Polona Jamnik, ostaja v mislih z nami tudi v teh dneh. Najtrajnejši spomin pa ji ohranjajo njeni študenti, ki s svojim znanjem in delom naprej razvijajo stroko, kateri je Polona Jamnik preko svojega pedagoško-raziskovalnega dela posvetila največji del svoje življenjske energije. Zahvala za vse, spomin ostaja trajno živ med sodelavci in študenti.

prof. dr. Sonja Smole Možina,

v imenu sodelavcev Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil in Oddelka za živilstvo

VABLJENO PLENARNO PREDAVANJE

**PRIHODNOST HRANE IN IZZIVI TRAJNOSTNEGA PREOBLIKOVANJA
PREHRANSKIH SISTEMOV DO LETA 2050**Blaža NAHTIGAL¹

Povzetek: Prehrana in kmetijstvo sta ključna za soustvarjanje prihodnosti hrane in trajnostnih prehranskih sistemov. Podnebne spremembe in okoljski šoki, rast svetovne populacije in posledično večje povpraševanje po hrani ter motnje v prehranski verigi so le nekateri izzivi, s katerimi se soočamo in zahtevajo prehod na trajnostne prehranske sisteme, ki bodo zagotavljali prehransko varnost ob hkratnem varovanju okolja.

Že leta 2015 so države članice Združenih narodov potrdile sedemnajst ciljev trajnostnega razvoja (SDG) razvojne Agende 2030 in jih vključile v svoje politike in strategije. Cilji so univerzalni in združujejo gospodarsko, družbeno ter okoljsko dimenzijo trajnostnega razvoja. Napovedujejo krepitev kmetijstva in odpravo lakote ob trajnostnem upravljanju z naravnimi viri do leta 2030, a smo daleč od pričakovanih rezultatov.

Glavni cilj preoblikovanja prehranskih sistemov in delovanja Organizacije združenih narodov za prehrano in kmetijstvo (FAO) je zagotovitev globalne prehranske varnosti. Strateški okvir FAO za obdobje 2022-31 sledi ciljem trajnostnega razvoja. Dvajset prednostnih področij je združeno v štiri osnovne skupine za preoblikovanje prehranskih sistemov: za boljšo proizvodnjo (pristop "Eno zdravje", inovacije, digitalizacija), boljšo prehrano (varnost hrane, manj izgub in odpadne hrane, zdrava hrana za vse), boljše okolje (blaženje podnebnih sprememb, biotska raznovrstnost, bioekonomija) in boljše življenje (enakost spolov, razvoj podeželja).

Prednostne naloge v letu 2025, ko FAO praznuje 80. obletnico delovanja, ostajajo osredotočene na odpravo lakote in izboljšanje prehranske varnosti ter varnosti hrane, spodbujanje znanosti in inovacij, krepitev odpornosti ter zmanjševanje tveganj za učinkovito soočanje z izzivi prehranjevanja svetovnega prebivalstva, ki naj bi do leta 2050 preseglo 9 milijard.

FAO v dokumentu o prihodnosti prehrane in kmetijstva ter alternativah do leta 2050 predvideva več možnih scenarijev razvoja. Prvi ohranja "poslovanje kot običajno" brez večjih sprememb, z uporabo intenzivnih kmetijskih metod, ki vodijo v nadaljnjo degradacijo okolja in večanje prehranske neenakosti. Drugi scenarij, poimenovan "tehnološka revolucija", uporablja napredne tehnologije, kot sta biotehnologija in umetna inteligenca, omogoča optimizacijo naravnih virov ter krepi prehransko varnost. Tveganje predstavlja (ne)dostopnost tehnologij. Tretji scenarij vključuje "trajnostni prehod" na ekološko kmetovanje in regenerativno kmetijstvo ter krepi lokalne prehranske sisteme in kratke dobavne verige. Odlikuje ga manj negativnih vplivov na okolje in pravičnejša razporeditev virov. Četrti scenarij "prehranska kriza in prisilne reforme" predstavlja izhod v krizi, saj gre za prisilni prehod na trajnostne prakse zaradi podnebnih sprememb, geopolitičnih kriz in/ali pomanjkanja naravnih virov. Spremljajo ga strožja zakonodaja in omejitve v prehranski industriji.

Pri preoblikovanju prehranskih sistemov je ključna vloga znanosti. Razvoj inovativnih kmetijskih praks in podnebno prilagojenih pridelovalnih tehnik, izboljšanje prehranske varnosti (raziskave o varnosti hrane, izboljšani načini predelave in shranjevanja), optimizacija dobavnih verig (za manj odpadne hrane) ter vpliv prehrane na zdravje so le nekatera področja, ki bodo krojila prihodnost hrane. Izziv presega meje agronomije, živilstva, prehrane in ekologije. Zahteva sodelovanje, povezovanje znanstvenih disciplin, inovacije in politično voljo ter vključenost javnosti, kmetov in živilske industrije. Živilska znanost stremi k trajnostnim rešitvam z iskanjem alternativnih virov beljakovin, uporabo stranskih proizvodov ter zmanjševanjem ogljičnega odtisa živil. Z reformulacijami poskuša izboljšati kakovost hrane in vplivati na prehranske navade potrošnikov.

Znanstveni izzivi prihodnosti hrane vključujejo reorganizacijo prehranske verige za zagotavljanje prehranske varnosti ter oceno vpliva novih tehnologij na proizvodnjo hrane in krožno gospodarstvo. Ključno bo povezati pristope za obvladovanje kemijskih in mikrobioloških tveganj, ustrezno nasloviti antimikrobno odpornost, uskladiti ocene tveganja za ljudi in okolje ter izkoristiti potencial umetne inteligence in strojnega učenja.

¹ dr., Ministrstvo za zunanje in evropske zadeve, Veleposlaništvo RS pri Svetem sedežu, Via della Conciliazione 10, Rim, e-mail: blaza.nahtigal@gov.si

Razvoj na področjih, povezanih s hrano, spreminjanje prehranskih navad, konceptov kakovosti in varnosti hrane ter politične in gospodarske spremembe zahtevajo učinkovito prilagajanje živilske znanosti. Za soočanje z izzivi prihodnosti hrane so ključni zanesljivi znanstveni nasveti in ustrezno obveščanje "od vil do vilic" ter povečanje zmogljivosti na področjih znanj, metodologij in podatkov. Prihodnost hrane zahteva sodelovanje države, znanstvenih inštitucij, kmetijstva, industrije in civilne družbe, ter odgovorno ravnanje vsakega posameznika.

"Znanost v akciji" je tudi tema letošnjega svetovnega dne varnosti hrane, ki poudarja ključno vlogo znanosti pri zagotavljanju verodostojnih informacij in sprejemanju premišljenih odločitev, povezanih s prehranskimi sistemi. Prihodnost hrane, ki vključuje trajnostno pridelavo, predelavo in porabo hrane; prehransko varnost in varnost hrane; zmanjšanje izgub in odpadne hrane ter preprečevanje goljufij s hrano, bo mogoča le ob podpori raziskav in inovacij.

Ključne besede: prihodnost hrane, trajnostni prehranski sistemi, prehranska varnost, FAO

THE FUTURE OF FOOD AND THE CHALLENGES OF SUSTAINABLE FOOD SYSTEMS TRANSFORMATION BY 2050

Abstract: Nutrition and agriculture are key to co-creating the future of food and sustainable food systems. Climate change and environmental shocks, the growing global population and the resulting increased demand for food, as well as disruptions in the food supply chain, are just some of the challenges we face. These demand a transition to sustainable food systems that ensure food security while also protecting the environment.

As early as 2015, the member states of the United Nations adopted the seventeen Sustainable Development Goals (SDGs) of the 2030 Agenda for Sustainable Development and integrated them into their policies and strategies. The goals are universal and combine the economic, social, and environmental dimensions of sustainable development. They aim to strengthen agriculture and eliminate hunger through sustainable management of natural resources by 2030, but we are far from the expected outcomes.

The main goal of the food systems transformation, and of the work of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), is to ensure global food security. FAO's strategic framework for the period 2022–2031 aligns with the Sustainable Development Goals. Twenty priority areas are grouped into four core categories for food systems transformation: better production (the "One Health" approach, innovation, digitalisation), better nutrition (food safety, reducing food loss and waste, healthy diets for all), better environment (climate change mitigation, biodiversity, bioeconomy), and better life (gender equality, inclusive rural transformation).

The priority tasks in 2025, as FAO celebrates its 80th anniversary, remain focused on ending hunger, improving food security and food safety, advancing science and innovation, strengthening resilience, and reducing risks to effectively address the challenges of feeding a global population expected to exceed 9 billion by 2050.

In its document on the Future of Food and Agriculture and Alternative pathways to 2050, FAO envisions several possible development paths. The first is "business as usual," without major changes, continuing intensive farming methods that lead to further environmental degradation and increased food inequality. The second scenario, the "technological revolution," utilizes advanced technologies such as biotechnology and artificial intelligence to optimize natural resources and strengthen food security. However, accessibility and equity remain significant concerns. The third scenario, a "sustainable transition," involves organic and regenerative farming and strengthens local food systems and short supply chains. It is characterised by less environmental impact and a fairer distribution of resources. The fourth scenario, "food crisis and forced reforms," emerges in response to crises – representing a compelled shift to sustainable practices due to climate change, geopolitical crises, and/or resource scarcity. It comes with stricter regulations and restrictions within the food industry.

Science plays a key role in food systems transformation. The development of innovative agricultural practices and climate-adapted cultivation techniques, the improvement of food security (research on food safety, improved processing and storage methods), supply chain optimization (to reduce food waste), and the impact of diet on health are just some of the areas shaping the future of food. The challenge goes beyond agronomy, food science, nutrition, and ecology. It requires collaboration, integration of scientific disciplines, innovation and political will, as well as the involvement of the public, farmers and the food industry. Food science strives for sustainable

solutions by exploring alternative protein sources, using by-products, and reducing the carbon footprint of food. Reformulation efforts aim to improve food quality and encouraging better dietary habits.

The scientific challenges shaping the future of food include reorganising the food chain to ensure food security and evaluating the impact of emerging technologies on food production and the circular economy. It will be essential to integrate approaches for managing chemical and microbiological risks, adequately address antimicrobial resistance, align risk assessments for human health and the environment, and harness the potential of artificial intelligence and machine learning.

Developments in food-related fields, changes in dietary habits, food quality and safety concepts, as well as political and economic shifts require effective adaptation from food science. To meet future food challenges, reliable scientific advice and proper communication "from farm to fork" are crucial, along with increased capacity in knowledge, methodologies, and data. The future of food demands cooperation between the government, scientific institutions, agriculture, industry, and civil society, as well as responsible action from each individual.

"Science in Action" is also the theme of this year's World Food Safety Day, highlighting the crucial role of science in providing reliable information and supporting informed decision-making related to food systems. The future of food, which includes sustainable production, processing, and consumption; food security and food safety; the reduction of food loss and waste; and the prevention of food fraud, will only be possible with the support of research and innovation.

Keywords: future of food, sustainable food systems, food security, FAO

ERA CHAIR – FOODOMICS

Urška VRHOVŠEK¹ in Nataša POKLAR ULRIH²

Povzetek: Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani (UL BF) je bila uspešna na razpisu evropskega raziskovalnega in inovacijskega programa Obzorje Evropa. Pridobila je projekt ERA Chair – *Chair of Metabolomics in Food and Nutrition (Foodomics)*, v okviru katerega bo vzpostavljen nov interdisciplinarni Center za metabolomiko, ki ga bo vodila prof. dr. Urška Vrhovšek. Projekt je koordinirala prof. dr. Nataša Poklar Ulrih z UL BF. Poleg raziskovalcev z UL BF pri projektu sodelujejo tudi strokovnjaki s Fakultete za matematiko in fiziko (FMF) ter Medicinske fakultete (MF). Prehranski sistemi pomembno vplivajo na podnebne spremembe, zmanjševanje obsega kmetijskih zemljišč in izgubo biotske raznovrstnosti, hkrati pa se morajo na te izzive tudi aktivno odzivati. Zato ni presenetljivo, da se živilska industrija sooča s številnimi izzivi: zagotavljanje prehranske varnosti, kakovosti in zadostnosti, zmanjševanje zavržkov hrane, izboljševanje prehrane in zdravja, prilagajanje spreminjajočim se željam in življenjskemu slogu potrošnikov (npr. vse večje povpraševanje po ekološki hrani), naraščajoča urbanizacija ter ocenjevanje koristi in tveganj, povezanih z novimi tehnologijami. Ustanovitev Centra za metabolomiko bo spodbudila in pospešila povezovanje že uveljavljenih raziskovalnih skupin, s čimer se bo ustvarila kritična masa interdisciplinarnega znanja, nujnega za krepitev nacionalnih raziskav na področju hrane, prehrane in zdravja. Vzpostavljena mreža raziskovalcev in profesorjev bo novo pridobljeno znanje vključila tudi v izobraževalne programe na Univerzi v Ljubljani. Na UL FMF je vodja projekta izr. prof. dr. Matija Milanič.

Ključne besede: metabolomika, hrana, prehrana, center za metabolomiko

ERA CHAIR – FOODOMICS

Abstract: The Faculty of Biotechnology of the University of Ljubljana (UL BF) has been successful in the call for proposals of the European Research and Innovation Programme Horizon Europe, and has been awarded the ERA Chair - Chair of Metabolomics in food and nutrition (Foodomics) project, which will establish a new interdisciplinary Centre for Metabolomics led by prof. dr. Urška Vrhovšek. The project was coordinated by prof. dr. Nataša Poklar Ulrih from UL BF, and in addition to researchers from UL BF, collaborators from the Faculty of and Physics (FMF) and Faculty of Medicine (MF) are also involved. Food systems are affected by climate change, the loss of agricultural land and biodiversity loss, and need to respond to all these changes. Not surprisingly, the food industry faces many challenges, including maintaining food sufficiency, safety and quality, reducing food waste, improving nutrition and health, responding to changing consumer preferences and lifestyles (e.g. increasing demand for organic food), increasing urbanisation, and assessing the benefits and risks of new technologies. The establishment of the Metabolomics Research Centre will catalyse and accelerate the integration of several excellent and existing research groups working together to create the critical mass of interdisciplinary knowledge needed to improve national food, nutrition and health research. The established network of researchers and professors will also integrate the knowledge generated into the educational process at UL. At UL FMF, the project leader is Associate Prof. Dr Matija Milanič.

Keywords: metabolomics, food, nutrition, centre of metabolomics

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: urska.vrhovsek@bf.uni-lj.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: natasa.poklar@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Univerza v Ljubljani (UL) združuje vrhunske raziskovalne skupine na področju hrane in prehrane. Nekateri raziskovalci sodijo med 2 % najvplivnejših znanstvenikov na svetu na teh področjih, kar potrjuje tudi javno dostopna baza podatkov Univerze Stanford, pri čemer imajo mnogi h-indeks višji od 20. Kljub temu UL zaradi razpršenosti raziskovalnega dela in pomanjkanja povezovanja med skupinami pogosto izpušča priložnosti za strateško sodelovanje in oblikovanje mreže vrhunskih raziskav in inovacij na vse pomembnejšem področju prehranske metabolomike. Ob tem se je izkazala potreba po vzpostavitvi Centra za metabolomiko, ki bi ga vodil vrhunski strokovnjak z izkušnjami na področju metabolomike v prehrani.

Ustanovitev takšnega centra, ki bo deloval kot katalizator, bo bistveno prispevala k povezovanju že uveljavljenih raziskovalnih skupin ter ustvarjanju kritične mase interdisciplinarnega znanja. Cilj je izboljšati nacionalne in mednarodne raziskave o vplivu prehrane na zdravje ter spodbuditi sodelovanje najboljših slovenskih raziskovalnih laboratorijev.

Z uporabo najsodobnejših instrumentov lahko danes določamo številne netačne metabolite. Razvoj naprednih orodij za podatkovno rudarjenje in povezovanje z drugimi – omikami omogoča sočasno merjenje tisoč doslej zapostavljenih, tudi še neznanih metabolitov, pri čemer se enotni stroški na analit znatno znižujejo. Ta preboj odpira vrata neomejenim aplikacijam, saj omogoča nov, celosten pogled na metabolizem. Premikamo se od osredotočenosti na genom k multiomskemu pristopu, v katerem imajo genom, ekspozom in metabolom povezane in komplementarne vloge.

Napredna znanstvena orodja ter rastoča javna zavest in povpraševanje po trajnostni, kakovostni, hranilni in personalizirani prehrani ustvarjajo velike priložnosti za vse deležnike. Projekt ERA Chair FOODOMICS bo spodbujal razvoj znanosti prek razvoja novih analitičnih metod in nudenja merilnih storitev za rastline, živali in ljudi ter njihove celične modele.

ERA Chair bo razvijal celostne metode za izboljšanje znanja o molekularnih značilnostih hranilno in senzorično pomembnih spojin. Center za metabolomiko bo razširil uporabo metabolomike na prehranske intervencijske študije, spremljal pot naravnih bioaktivnih spojin po človeškem telesu, raziskoval človeški mikrobiom ter identificiral in potrjeval biomarkerje. Te informacije bodo poglobile razumevanje vpliva prehrane na zdravje in bolezni, kot sta debelost in diabetes. Raziskave v okviru projekta FOODOMICS bodo osredotočene tudi na razumevanje medosebnih razlik v metabolizmu, ki vodijo do različnih metabolotipov – ključnega koraka k personalizirani prehrani – ter na razvoj živil z višjo dodano vrednostjo prek inovativnih tehnologij predelave. Želeni družbeni učinki vključujejo izboljšanje zdravja in dobrega počutja posameznikov ter zmanjšanje obremenitev zdravstvenega sistema.

2 CILJI IN AMBICIJE

Načrtovane strukturne spremembe na UL temeljijo na SWOT analizi, ki poudarja pomembnost tehnološkega razvoja, potrebe po izboljšanju raziskovalne infrastrukture, privlačnosti UL za raziskovalce ter razvoja človeškega potenciala, ob hkratnem zmanjševanju fragmentacije in izolacije raziskovalnega osebja. Te ugotovitve predstavljajo glavno motivacijo za aktivnosti predlaganega projekta in oblikovanje ustreznega akcijskega načrta.

Osrednji ukrepi v okviru ERA Chair vključujejo pridobivanje novih kompetenc in znanja s področij, kot so napredne metode za kemijsko profiliranje hrane in presnovnih produktov. Vodja Centra za metabolomiko in nosilka ERA katedre je prof. dr. Urška Vrhovšek, priznana strokovnjakinja na tem področju. Povezovanje širokega spektra znanj znotraj UL, povezovanje nacionalnih in mednarodnih raziskovalnih dejavnosti ter posodobitev nacionalnega raziskovalnega prostora predstavljajo ključno priložnost za uspešno izvedbo projekta.

Analitična platforma FOODOMICS bo povezala vso razpoložljivo raziskovalno infrastrukturo UL, razpršeno po različnih fakultetah in podpornih ustanovah, s ciljem podpore raziskovanju, izobraževanju in prenosu znanja.

Platforma bo temeljila na skupnih raziskovalnih projektih, vključujoč nove raziskovalne objave, doktorske in magistrske študente ter podoktorske raziskovalce.

Posebna pozornost bo namenjena upravljanju podatkov in uporabi računalniške biologije v sodelovanju z industrijskimi uporabniki. Metabolomske tehnologije ustvarjajo velike in kompleksne nize podatkov, ki zahtevajo urejeno, dostopno, pregledno in varno infrastrukturo za hrambo, obdelavo in dolgoročno hranjenje podatkov, pa tudi napredna statistična in bioinformatična orodja za njihovo interpretacijo. Projekt bo vzpostavil platformo za validacijo, analizo, prikaz in deljenje metabolomskih podatkov in metapodatkov, pridobljenih v okviru delovnega sklopa WP3. Uporabljen bo integriran pristop za upravljanje z informacijami, kar bo ključno za povečanje njihove vrednosti in inovacijskega potenciala.

3 TRAJNOST

Cilj projekta ERA Chair je zagotoviti dolgoročno delovanje Centra za metabolomiko po zaključku projekta. Center bo neodvisna in vodilna raziskovalna ter izobraževalna enota na področju prehranske metabolomike na UL, z lastno strateško raziskovalno agendo in izvedbenim načrtom. V raziskave bodo vključeni različni raziskovalni oddelki z multidisciplinarnim znanjem.

Nastalo znanje bo vključeno v skupne raziskovalno-razvojne projekte z nacionalnimi in mednarodnimi partnerji iz akademskega in industrijskega okolja, v visokošolske študijske programe ter v svetovalne aktivnosti za oblikovalce politik. Projekt FOODOMICS bo omogočil močnejši nastop na razpisih programa Obzorje Evropa in drugih evropskih instrumentih, kot so ERA NET, EJP, ukrepi Marie Skłodowska-Curie, evropska infrastruktura ter ERC razpisi.

Strateški cilj UL je povečanje obsega evropskega financiranja in zmanjšanje odvisnosti od nacionalnih virov. Projekt bo dolgoročno krepil kadrovske zmogljivosti ter spodbujal internacionalizacijo prek konkurenčnih regionalnih, nacionalnih in mednarodnih razpisov.

4 PREDSTAVITEV RAZISKOVALNE SKUPINE

Projekt ERA Chair FOODOMICS vodi prof. dr. Nataša Poklar Ulrih. Vodja Centra za metabolomiko in nosilka ERA katedre je prof. dr. Urška Vrhovšek. Pri projektu sodelujejo strokovnjaki Biotehniške fakultete UL: z Oddelka za agronomijo (prof. dr. Robert Veberič), Oddelka za zootehniko (znan. svet. dr. Bojana Bogovič Matijašič) ter Oddelka za živilstvo (izr. prof. dr. Mojca Korošec, prof. dr. Tomaž Polak, prof. dr. Barbka Jeršek, doc. dr. Evgen Benedik, doc. dr. Iztok Prislan). Sodelujejo tudi raziskovalci s Fakultete za matematiko in fiziko (izr. prof. dr. Matija Milanič) in Medicinske fakultete (prof. dr. Tadej Battelino).

5 ZAKLJUČEK

Trajnostni prehranski sistemi, visokokakovostna hrana, krožno in bio-gospodarstvo ter odporne, vključujoče, zdrave in zelene skupnosti so pomembni za sedanjost in prihodnost. Metabolomski podatki so ključnega pomena v diagnostiki, pri ohranjanju zdravja v hitro spreminjajoči se družbi, obravnavi prehranskih bolezni ter zmanjšanje bremena bolezni (individualizirane diete in prehranski proizvodi).

Metabolomika lahko pomembno prispeva k inovativni, trajnostni in kakovostni zdravstveni oskrbi z integracijo prehrane in medicine. Nova znanstvena dognanja bodo hitro prešla v terapevtske rešitve. Projekt FOODOMICS bo združil nacionalno in mednarodno strokovno znanje ter ustvaril javno dostopen vir ekspertize, ključne za izvajanje strategij in politik.

Izboljšanje kakovosti in varnosti hrane ter krme vključuje mnoge vidike javnega razvoja (npr. načrtovanje ukrepov in aktivnosti Sveta za varnost hrane ter Sveta za razvoj v kmetijstvu, gozdarstvu in prehrani na Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS ter izboljšanje nadzora trga prek Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin – cilji Evropskega zelenega dogovora, strategije "od vil do vilic" ter Evropskega podnebne

pakta), kot tudi nove poslovne strategije, pospeševanje podjetništva ter povečanje konkurenčnosti na globalnem trgu z razvojem ustrezne sheme za zaščito kakovosti in porekla izdelkov.

Nove metode, ki temeljijo na metabolomiki, ščitijo potrošnike, zagotavljajo visokokakovostne izdelke ter ščitijo lokalna podeželska gospodarstva, ohranjajo tradicionalna živila, proizvodne metode in proizvodne regije (dolgoletna vizija za razvoj podeželja). Poleg tega lahko novi alternativni prehranski in krmni viri, temelječi na rastlinskih beljakovinah, insektih in nižjih organizmih, zmanjšanje zavržene hrane in njena ponovna uporaba predstavljajo velik korak k povečanju učinkovitosti proizvodnje hrane. To bo omogočilo prenos specifičnega strokovnega znanja ERA Chair v nacionalne strategije in akcijske načrte o krožnem gospodarstvu, bio-ekonomiji ter zmanjšanju količine zavržene hrane (Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS, Ministrstva za okolje in prostor RS ter Ministrstva za gospodarski razvoj in tehnologijo RS ter na ravni EU) (Evropski zeleni dogovor).

6 ZAHVALA

ERA Chair – Foodomic projekt financira Evropska unija v okviru programa Obzorje Evropa (projekt 101186975).

7 VIRI

Grant Agreement Project 101186975 — Foodomics

PERSONALIZIRANA MEDICINA ZA ZDRAVO STARANJE: INTERDISCIPLINARNI PRISTOP K STARANJU

Eva Kočar¹, Damjana Rozman¹, Alja Videtič Paska¹, Julija Šmon¹, Mojca Katrašnik¹, Jernej Kovač¹, Robert Šket¹, Tine Tesovnik¹, Barbara Jenko Bizjan¹, Tadej Battelino¹, Tanja Blagus¹, Katja Goričar¹, David Vogrinc¹, Urška Janžič¹, Vita Dolžan¹, Davorina Petek¹, Marija Petek Šter¹, Jadranka Buturovič Ponikvar¹, Urška Vrhovšek², Mihaela Skrt², Pavle Simić², Gorazd Avguštin², Tomaž Accetto², Lijana Fanedl², Tomaž Polak², Mateja Lušnic Polak², Mojca Kuhar², Evgen Benedik², Neža Lipovec², Bojana Bogovič Matijašič², Tanja Obermajer², Maroje Sorić³, Gregor Starc³, Bojan Leskošek³, Kaja Meh³, Sara Besal³, Ana Halužan Vasle⁴, Miha Mraz⁴, Tanja Istenič⁵, Jan Porenta⁵, Tome Eftimov⁶, Eva Valenčič⁶, Matevž Ogrinc⁶, Barbara Koroušić Seljak⁶, Jože Sambt⁵, Gregor Jurak³, Nataša Poklar Ulrih², Miha Moškon⁴, Tadeja Režen¹

Družba, v kateri živimo, se stara, zato narašča potreba po omogočanju in ohranjanju zdravega življenjskega sloga starejše populacije. Cilj projekta je razviti orodja za personalizirano oceno staranja, s katero bi bilo mogoče oblikovati individualna in splošna priporočila ter načrtovati preventivne oziroma »življenjske« programe. Zbirali in integrirali bomo podatke o družinski anamnezi, življenjskem slogu, telesni pripravljenosti, prehranskih navadah, socialnih dejavnikih ter genomu, epigenomu, farmakogenomu, mikrobiomu in metabolomu posameznika. Na tej podlagi bomo ustvarili digitalne dvojčke posameznikov in pripravili personalizirana priporočila za zdravo staranje.

Zbiranje podatkov o prehranskih navadah preiskovancev bo potekalo preko standardiziranih prehranskih vprašalnikov, upoštevajoč tudi nekatere faktorje življenjskega sloga (npr. spanje, fizična aktivnost). Podatke o prehranskih navadah bomo povezali s podatki o sestavi živil in referenčnimi vrednostmi za vnos hranil, na osnovi katerih bomo ocenjevali energijski in hranilni vnos preiskovancev v obdobju raziskave. V ta namen bomo uporabili spletno orodje NutriBase, ki omogoča urejanje podatkov in znanja o prehrani na nacionalnem nivoju. NutriBase temelji na evropskih standardih, kar omogoča enostavno povezljivost tudi z drugimi viri podatkov.

Pričakujemo, da bomo z integracijo heterogenih podatkov iz različnih virov lahko natančneje napovedali biološko staranje in pojav z njim povezanih bolezni pri posamezniku. Soglasje za izvedbo raziskave smo že pridobili od Nacionalne medicinske etične komisije Republike Slovenije ter izvedli pilotsko študijo na manjšem številu posameznikov.

ZAHVALA

Projekt je bil potrjen kot interdisciplinarni projekt Univerze v Ljubljani (UL) in je financiran iz sredstev, ki jih je Agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) namenila UL.

¹ Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenia

² Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenia

³ Faculty of Sport, University of Ljubljana, Gortanova 22, 1000 Ljubljana, Slovenia

⁴ Faculty of Computer and Information Science, University of Ljubljana, Večna pot 113, 1000 Ljubljana, Slovenia

⁵ School of Economics and Business, University of Ljubljana, Kardeljeva ploščad 17, 1000 Ljubljana, Slovenia

⁶ Institute Jozef Stefan, Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana

VABLJENO PREDAVANJE

HIBRIDNI MESNI IZDELKI – NAJBOLJŠE IZ OBEH SVETOVMateja LUŠNIC POLAK¹, Tomaž POLAK², Lea DEMŠAR³ in Mojca KUHAR⁴

Povzetek: Svetovna populacija hitro narašča, kar v prihodnosti pomeni velik izziv za trajnostno preskrbo s hrano. V tem kontekstu se pojavljajo alternativni pristopi, kot so hibridni mesni izdelki, ki združujejo mesne in alternativne vire beljakovin ter predstavljajo obetavno rešitev za živilskopredelovalno industrijo, saj združujejo prehranske koristi mesa in alternativnih virov beljakovin ter zmanjšujejo okoljski odtis. Združevanje virov omogoča optimizacijo aminokislinskega profila, povečanje biološke razpoložljivosti izbranih hranil ter zmanjšanje vsebnosti nasičenih maščob, kar ima ugoden vpliv na zdravje. Predstavniki alternativnih virov beljakovin so predvsem rastlinski viri, mikroalge, insekti in mikoproteini, pri čemer ima vsak vir svoje prehranske prednosti in tehnološke omejitve. Pri razvoju hibridnih mesnih izdelkov je ključnega pomena ohranjanje senzoričnih lastnosti in hranilne vrednosti, saj potrošniki pogosto zaznavajo tovrstne izdelke kot manj sprejemljive. Trenutno za tovrstne izdelke ne obstaja enotna definicija, kar povzroča zmedo med proizvajalci ter otežuje trženje, zato je v prvi vrsti potrebno razviti ustrezen zakonodajni okvir, ki bo omogočal regulacijo in enotno klasifikacijo tovrstnih izdelkov.

Ključne besede: hibridni mesni izdelki, trajnostna hrana, alternativni viri hranil

HYBRID MEAT PRODUCTS – THE BEST OF BOTH WORLDS

Abstract: The global population is rapidly increasing, which poses a significant challenge for sustainable food supply in the future. In this context, alternative approaches such as hybrid meat products, which combine meat and alternative protein sources, are emerging as a promising solution for the food processing industry. These products combine the nutritional benefits of meat and alternative protein sources while reducing the environmental footprint. Combining different sources enables the optimization of the amino acid profile, increased bioavailability of selected nutrients, and a reduction in saturated fat content, which has a positive impact on health. Alternative protein sources primarily include plant-based sources, microalgae, insects, and mycoproteins, each with its own nutritional advantages and technological limitations. Maintaining sensory properties and nutritional value is crucial in the development of hybrid meat products, as consumers often perceive such products as less acceptable. Currently, there is no standardized definition for such products, leading to confusion among producers and complicating marketing efforts. Therefore, it is essential to develop an appropriate regulatory framework that enables the regulation and standardized classification of these products.

Keywords: hybrid meat products, sustainable food, alternative nutrient sources

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

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

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

⁴ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mojca.kuhar@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Globalna populacija naj bi do leta 2050 dosegla 9,7 milijarde (Združeni narodi, 2019), kar z vidika preskrbe s hrano pomeni dodatno obremenitev za okolje. Poročilo Medvladnega odbora za podnebne spremembe (IPCC, 2022) ugotavlja, da se je rast globalnih emisij toplogrednih plinov sicer upočasnila, vendar bodo podnebne spremembe v prihodnjih desetletjih vse izrazitejše, če ne bodo sprejeti takojšnji in odločni ukrepi. Prehranski sistem je eden ključnih virov emisij toplogrednih plinov, kar pomeni, da ima ključno vlogo pri podnebnih spremembah (Vermeulen in sod., 2012).

V številnih evropskih državah je vnos beljakovin višji od priporočenih vrednosti. Ena izmed možnih rešitev je spodbujanje potrošnikov k zmanjšanemu uživanju mesa, kar pa lahko predstavlja izziv, zlasti v severni in zahodni Evropi, kjer prehrana tradicionalno vključuje kombinacijo ogljikovih hidratov, zelenjave in vira beljakovin. Meso v teh regijah pogosto velja za osrednji in najbolj cenjen del obroka. Raziskave kažejo, da manjša kot je potrošnikova potreba po mesu, bolj je pripravljen zmanjšati njegovo porabo (Lentz in sod., 2018). Pogosta ovira pri sprejemanju mesnih alternativ je tudi prehranska neofobija - strah pred novimi živili.

Zanimanje za fleksitarijanski način prehranjevanja v zadnjem obdobju narašča, saj vse več potrošnikov preizkuša alternativne načine prehranjevanja in zmanjšuje vnos mesa. Čeprav so opredelitve fleksitarijanstva raznolike, je za ta način prehranjevanja značilno, da se v določenih situacijah posamezniki iz različnih razlogov namerno vzdržijo uživanja mesa, kar spodbuja trajnostni način prehranjevanja (Verain in sod., 2022). V tem okviru se kot alternativa tradicionalnim mesnim izdelkom uveljavljajo hibridni mesni izdelki, ki so sestavljeni iz kombinacije rastlinskih in živalskih sestavin v različnih razmerjih. Čeprav uradna definicija hibridnih mesnih izdelkov še ne obstaja, jih opredeljujemo kot izdelke, v katerih je del mesa nadomeščen s trajnostnimi viri beljakovin, kot so beljakovinski koncentрати in izolati iz stročnic, zelenjave ter oljnic v različnih razmerjih, od približno 25 do 50 %. Prednost teh izdelkov je, da ohranjajo značilno aromo in teksturo mesa, hkrati pa vključujejo sestavine rastlinskega izvora, ne da bi bistveno spreminjali prehranske navade potrošnikov (Grasso in Jaworska, 2020).

2 ALTERNATIVNI VIRI BELJAKOVIN

Vrsta alternativnega vira beljakovin, uporabljenega v hibridnih mesnih izdelkih, je ključna za interakcije med alternativnimi in mesnimi beljakovinami. Pri kombiniranju teh dveh vrst beljakovin je pričakovati, da bodo končni izdelki imeli drugačne funkcionalne in prehranske lastnosti od običajnih mesnih izdelkov (slika 1). Miofibrilarne beljakovine v mesu imajo visoko emulgivno sposobnost in tvorijo elastične gele, ki med toplotno obdelavo zadržujejo vodo in maščobe znotraj beljakovinske mreže (Li in sod., 2020). Poleg tega vsebujejo vse esencialne aminokisline in druge pomembne hranilne snovi. Nasprotno pa imajo alternativne beljakovine bistveno drugačne funkcionalne in prehranske lastnosti (Grasso in Goksen, 2023).



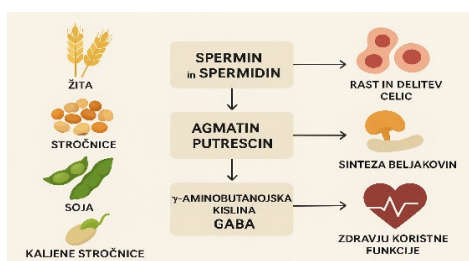
Slika 1: Uporaba rastlinskih virov beljakovin (prirejeno po Tkaczewska in sod., 2024)

2.1 RASTLINSKI VIRI

V hibridnih izdelkih se kot alternativni viri beljakovin pogosto uporabljajo moke iz stročnic, teksturirane beljakovine, izolati beljakovin in celo nekateri stranski proizvodi, kot je npr. konoplina pogača. Stročnice veljajo za enega najbolj konvencionalnih, hranilno bogatih in dostopnih virov beljakovin. Zanje je značilna velika vsebnost beljakovin (20-30 %), mineralov, vitaminov in prehranske vlaknine. In vitro prebavljivost beljakovin iz

mok stročnic znaša približno 80 %, indeks esencialnih aminokislin pa med 50 in 65 % (Schmidt in Oliveira, 2023). V primerjavi z žiti imajo stročnice ugodnejši aminokislinski profil, a jim pogosto primanjkuje žveplovih aminokislin in triptofana. Čeprav je soja najpogostejše uporabljen vir v hibridnih izdelkih, se zaradi njene alergenosti raziskujejo tudi alternative, kot so čičerika, leča in grah. Manj običajne vrste stročnic ter žit in psevdožit nudijo dodatne možnosti. Primerna je tudi liofilizirana zelenjava, saj dobro ohranja barvo, obliko in okus ter hitro absorbira vodo in se rehidrira (Wang in sod., 2022). Teksturirane beljakovine se uporabljajo zaradi svojih funkcionalnih lastnosti – sposobnosti vezave vode in maščob, izboljšanja stabilnosti emulzij in višjega izkoristka ter zagotavljajo strukturo, podobno mesnim izdelkom.

Žita, stročnice in soja vsebujejo tudi biogene amine, zlasti spermin in spermidin (Muñoz-Esparza in sod., 2019), ki skupaj z agmatinom in putrescinom sodelujejo pri številnih pomembnih bioloških funkcijah, kot so celična rast in delitev, ter sinteza beljakovin. V kaljenih stročnicah najdemo tudi povečano vsebnost γ -aminobutanojske kisline (GABA), neproteinogene aminokislina, ki je prisotna v rastlinah, živalih in mikroorganizmih ter je povezana s številnimi koristnimi učinki na zdravje (slika 2).



Slika 2: Biogeni amini in njihove funkcije v telesu

2.2 MIKROALGE

Mikroalge so rastlinam podobni fotoavtotrofi, za katere je značilna velika vsebnost beljakovin in ugoden aminokislinski profil. S tega vidika se zdi njihova uporaba kot alternativnega vira beljakovin v hibridnih izdelkih popolnoma upravičena. Kakovost beljakovin mikroalg je primerljiva ali celo višja od kakovosti beljakovin rastlinskih virov, npr. pšenice, fižola ali riža. Indeks esencialnih aminokislin v algah *Chlorella* sp. in *Arthrospira platensis* znaša 107,5 oziroma 102,6, kar je primerljivo s kazeinom, osnovno beljakovino v mleku (Kent in sod., 2015). Aminokislinski profil se sicer lahko razlikuje glede na vrsto mikroalge, zato bi uporaba mešanice različnih mikroalg v hibridnih izdelkih predstavljala zanimivo raziskovalno področje (Fu in sod., 2021).

Do zdaj je bilo opravljenih le malo raziskav, ki so osredotočene na uporabo beljakovin iz biomase mikroalg kot ključne sestavine pri izdelavi hibridnih mesnih izdelkov. Večina raziskav se osredotoča zgolj na zamenjavo določenih rastlinskih materialov z mikroalgami v ekstrudiranih mesnih analogih. Caporgno in sod., (2019) so pokazali, da lahko suha biomasa mikroalg v kombinaciji s sojinimi koncentratami potencialno ustvari vlaknaste teksturirane ekstrudate, primerne kot mesni nadomestek. V podobnih raziskavah je bilo ugotovljeno, da lahko dodatek mikroalge *Arthrospira* sp. rastlinskim beljakovinom izboljša fizikalno-kemijske in prehranske lastnosti (Palanisamy in sod., 2019). Biomasa mikroalg torej predstavlja pomemben potencial v razvoju hibridnih mesnih izdelkov, predvsem zaradi svoje visoke prehranske vrednosti, ki je primerljiva s prehransko vrednostjo stročnic.

2.3 INSEKTI

V nekaterih delih sveta so insekti že vrsto let del humane prehrane, vendar pa so v zahodnem svetu potrošniki do uživanja insektov zadržani, saj jih dojemajo kot nesprejemljive in potencialno toksične. Nedavne študije so pokazale, da je mogoče slabo sprejemanje insektov omiliti z naprednimi postopki predelave, kar odpira možnosti za njihovo vključevanje v hibridne mesne izdelke. Poleg tega dodajanje homogeniziranih insektov v živilske izdelke pripomore k zmanjšanju neofobije pred insekti v prehrani (Pintado in Delgado-Pando, 2020).

V večini užitnih insektov je vsebnost beljakovin primerljiva z vsebnostjo beljakovin v govedini, ribah ali kozicah, v nekaterih primerih pa celo večja (hrošči vrste *Palmworm*, odrasli termi in žuželke (Akhtar in Isman, 2018)). Prav tako večina užitnih insektov zagotavlja vse esencialne aminokisline, hkrati pa so tudi vir esencialnih maščobnih kislin, pri čemer so v večini primerov najbolj zastopane večkrat nenasičene, sledijo nasičene in enkrat nenasičene maščobne kisline. V pomembnih količinah so prisotni tudi železo, folna kislina, riboflavin (vitamin B2) in vitamin B12 (Krawczyk in sod., 2024).

V okviru projekta ULTRA (Urbano kmetijstvo) se na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil ukvarjamo z vzrejo ličink mokařja (*Tenebrio molitor*) ter preučujemo potencialne možnosti njihove uporabe v hibridnih suhih salamah.

2.4 MIKOPROTEINI IN GLIVE

Mikoproteini so trajnosten vir beljakovin z veliko vsebnostjo prehranske vlaknine. Vsebnost beljakovin je večja kot v drugih rastlinskih virih, vendar manjša v primerjavi z mesom. Vlaknina v celični steni je večinoma neizkoristljiva v tankem črevesju in je sestavljena iz dveh tretjin β -glukana ter ene tretjine hitina. Mikoproteine je mogoče uporabiti kot sestavino z majhno vsebnostjo maščob v hibridnih izdelkih (Perez-Montes in sod., 2021). Lahko jih pridobimo s fermentacijo gliv družine *Fusarium*. Na trgu je znana blagovna znamka živilskih izdelkov Quorn, ki temeljijo na mikoproteinu, pridobljenem iz glive *Fusarium venenatum*.

Preglednica 1: Alternativni viri beljakovin, njihove prednosti in omejitve (prirejeno po Wang in sod., 2023)

Vir beljakovin	Prednosti	Omejitve
Stročnice	Velika vsebnost esencialnih AK. Ugodna prehranska sestava.	Običajno velika vsebnost antinutritivnih snovi, npr. fitatov. Zaviralci encimov, ki zmanjšujejo biološko izkoristljivost beljakovin. Značilna vonj in aroma po fižolu zaradi produktov sekundarne oksidacije lipidov. Grenko-trpki okusi zaradi saponinov in izoflavonov. Alergenost nekaterih vrst (npr. soja).
Mikroalge	Bogat vir <i>n</i> -3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Bogat vir mineralov in bioaktivnih spojin (npr. fenolov, flavonoidov) z antioksidativno aktivnostjo.	Omejena prebavljivost beljakovin pri določenih sevih. Slaba sprejemljivost zaradi barve in okusa. Nekatere vrste so lahko toksične ali alergene.
Mikoproteini in glive	Vir prehranske vlaknine (hitin in glukan). Vir večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Prisotnost vseh esencialnih aminokislin. Žvečljiva tekstura, podobna mesu, zaradi vlaknate strukture micelija.	Možen pojav neželenih učinkov (bruhanje, driska, kožni izpuščaji in omedlevica).
Insekti	Velika vsebnost esencialnih aminokislin. Izboljšanje stabilnosti emulzij. Manjše izgube med toplotno obdelavo.	Možnost kopičenja težkih kovin in drugih onesnaževal. Motena absorpcija določenih hranil. Možen pojav alergijskih reakcij. Neželene spremembe v teksturi.

Užitne gobe so prav tako primeren vir beljakovin za uporabo v hibridnih mesnih izdelkih. Za njih je značilna nizka energijska vrednost in majhna vsebnost maščob. So bogat vir prehranske vlaknine, esencialnih vitaminov (B1, B2, B12, C, D, E) in elementov v sledovih, kot sta cink in selen. Vsebujejo med 20 in 30 % beljakovin na suho snov in vključujejo večino esencialnih aminokislin. Poleg tega so dober vir biološko aktivnih spojin, predvsem beta-glukanov. Njihova uporaba omogoča razvoj zdravju koristnih izdelkov z več prehranske vlaknine in manjšo vsebnostjo soli, ne da bi pri tem vplivali na fizikalno-kemijske lastnosti izdelka (Pintado in Delgado-Pando, 2020). Zamenjava dela mesnih beljakovin z gobami običajno poveča vsebnost vode, spremeni barvo in zmanjša trdoto končnega izdelka (Perez-Montes in sod., 2021). Beli šampinjon (*Agaricus bisporus*) je najpogostejše gojena užitna

goba, ki jo lahko uporabimo kot vir beljakovin ter tudi kot sestavino za izboljšanje okusa in povečanje občutka slaniosti v hibridnih izdelkih. V preglednici 1 so prikazani različni alternativni viri beljakovin ter njihove prednosti in omejitve pri uporabi v hibridnih mesnih izdelkih.

3 ZAMENJAVA MAŠČOB V HIBRIDNIH MESNIH IZDELKIH

Zamenjava živalskih sestavin v hibridnih izdelkih se ne nanaša le na beljakovine, temveč pogosto tudi na maščobe. V številnih raziskavah so preučevali vpliv uporabe različnih teksturiranih rastlinskih beljakovin in rastlinskih maščob na senzorične lastnosti in hranilno vrednost končnega izdelka (McClements in Grossmann, 2021). Trdne maščobe, kot je kokosova, se uporabljajo za posnemanje lastnosti živalskih maščob, saj zagotavljajo ustrezno teksturo. Vendar pa njihov velik delež nasičenih maščobnih kislin s prehranskega vidika ni optimalen, predvsem zaradi povezave s povečanim tveganjem za pojav srčno-žilnih bolezni. Pogosto uporabljeno rastlinsko olje pri formulaciji hibridnih izdelkov je olje oljne ogrščice, ki je zanimivo zaradi velike vsebnosti n-3 maščobnih kislin (alfa-linolenske kisline) ter ugodnega razmerja med n-3 in n-6 maščobnimi kislinami (Baune in sod., 2021). Nezaželena posledica prisotnosti nenasičenih maščobnih kislin v hibridnih izdelkih je možnost pojava žarkega okusa med proizvodnim procesom, zato se živalske maščobe pogosto nadomeščajo z oleogeli, ki predstavljajo trdno alternativo nasičenim maščobam (McClements in Grossmann, 2021). Na ta način zagotovimo ustrezno teksturo in hkrati izboljšamo prehranski profil izdelka. Primer so oleogeli, ki so pripravljeni iz dehidrirane olje/voda emulzije, pri čemer se kot edini oleogelator, brez dodatnih zgoščevalcev, uporablja hidroksipropilmetilceluloza (HPMC). Razviti so bili z namenom tvorbe kompaktne dehidrirane strukture, ki lahko zadrži do 95 % olja, kar zagotavlja ustrezno mehansko stabilnost izdelka (Espert in sod., 2020).

4 HIBRIDNI MESNI IZDELKI

Do danes so se raziskave na področju hibridnih izdelkov osredotočale na izdelavo hrenovk, piščančjih medaljonov, pleskavic in mesnih kroglic, izdelanih iz različnih komponent (stročnice, teksturirane beljakovine stročnic, beljakovinski izolati stročnic, moka iz konopljinih semen). Poudarek je bil na tehnoloških izzivih, kot so stabilnost emulzije in mesnega testa ter senzorična sprejemljivost (Grasso in Goksen, 2023).

Preglednica 2: Primeri hibridnih mesnih izdelkov, uporabljenih alternativnih virov beljakovin ter njihov vpliv na kakovost izdelka (prirejeno po Grasso in Goksen, 2023)

Izdelek	Vrsta mesa	Alternativni vir beljakovin	Vpliv alternativnega vira na lastnosti izdelka
Mesne kroglice	Svinjina	Grah, sončnica, buča	Dodatek do 30 % nima negativnega vpliva na senzorične lastnosti.
Mesna emulzija – hrenovka	Jagnjetina	Čičerika	Surova čičerika poveča stopnjo oksidacije maščob; kuhana poveča izgubo mase ter trdoto in žvečljivost.
Goveje pleskavice	Govedina	Gobe, teksturirane sojine beljakovine	Pri dodatku 10-40 % teksturiranih sojinih beljakovin je senzorična ocena izdelka primerljiva s kontrolnim izdelkom.
Salame	Svinjina in slanina	Moka iz hišnih čričkov (<i>A. domesticus</i>)	Poslabšanje teksturnih parametrov v primerjavi s kontrolo (trdota, prožnost, kohezivnost, žvečljivost, elastičnost in lomljivost), pospešena oksidacija lipidov in beljakovin med skladiščenjem (povečana vrednost TBAR in karbonilov).
Klobase za kuhanje	Svinjina in hrbtina slanina	Moka iz čričkov	Več kot 5 % zamenjava mesa povzroči temnejšo barvo ter trdo, suho in žvečljivo teksturo; brez vpliva na vodno aktivnost ali mikrobiološko kakovost.
Piščančji burger	Mleto piščančje meso	Rumeni grah, čičerika in leča	Dodatek rumenega graha (25 %, 50 % in 75 %) zmanjša vsebnost beljakovin; vse stročnice zmanjšajo toplotne izgube, povečajo izkoristek in zmanjšajo vsebnost maščob ter vode.

Omenjeni izdelki so že dostopni na trgih v Združenem kraljestvu, Avstriji, na Danskem in v ZDA. Pričakovanja potrošnikov glede okusa tovrstnih izdelkov so običajno razmeroma nizka. Kljub temu, da vsebujejo hibridni izdelki delež rastlinskih beljakovin, kar pozitivno vpliva na trajnost z vidika obstojnosti, jih mnogi potrošniki zaznavajo kot nezadovoljive z vidika senzoričnih lastnosti. Tehnološki napredki so znatno izboljšali senzorično kakovost teh izdelkov, vendar še vedno ostaja potreba po optimizaciji, saj tradicionalni mesni izdelki veljajo za okusnejše in bolj sprejemljive (Profeta in sod., 2021). Glavni dejavniki, ki vplivajo na senzorične lastnosti hibridnih mesnih izdelkov, vključujejo vrsto uporabljenih rastlinskih sestavin (beljakovine in maščobe) ter tehnološki postopek proizvodnje (preglednica 2).

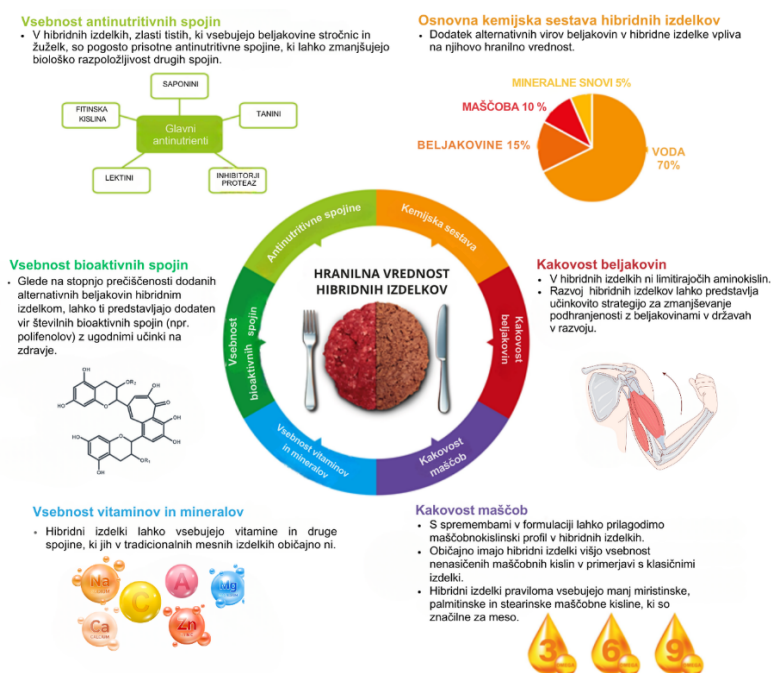
4.1 SUHA SALAMA KOT HIBRIDNI IZDELEK

Razvoj hibridnih različic suhih salam napreduje počasneje kot pri drugih mesnih izdelkih, saj proizvodnja tovrstnih izdelkov zahteva specifične tehnološke prilagoditve. Ključni izziv predstavljajo kompleksne interakcije med rastlinskimi in živalskimi komponentami, ki pomembno vplivajo na fizikalne, mikrobiološke in senzorične lastnosti končnega izdelka. Kljub velikemu potencialu rastlinskih surovin za tovrstno uporabo, je za uspešno implementacijo ključnega pomena skrbna izbira sestavin, mikrobioloških kultur in ustreznih tehnoloških postopkov (Garcia-Solivelles in sod., 2025). Za zagotovitev varnosti izdelka je potrebno doseči ustrezno vrednost pH in končno vsebnost vode. Razlike v osnovni sestavi in vrednosti pH mesa in rastlinskih surovin zahtevajo prilagoditve tradicionalnih receptur in proizvodnih postopkov. Proces zorenja je ključnega pomena za razvoj arome, teksture in mikrobiološke stabilnosti ter običajno poteka v dveh fazah: najprej zakisanje pri visoki relativni vlažnosti, nato sledi sušenje ob postopnem zniževanju relativne vlažnosti, dokler ni dosežena ustrezna izguba mase. V prisotnosti rastlinskih surovin pa lahko pride do odstopanj, saj te vplivajo na fermentacijo, vezavo vode in strukturo (Ebert in sod., 2022).

Na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil v okviru programske skupine P4-0234 izvajamo raziskave reformulacije suhih salam s teksturiranimi sojinimi beljakovinami in drugim rastlinskim materialom. Delna zamenjava mesa s stročnicami, žiti/psevdožiti ali kalčki predstavlja potencial za razvoj trajnostnih izdelkov z dodano prehransko vrednostjo. Prisotnost avtohtone mikroflore v rastlinskih surovinah prispeva k večji raznolikosti procesa fermentacije, kar posledično privede do tvorbe biogenih aminov. Vključitev kaljenih stročnic ima lahko pozitiven vpliv tudi na povečanje vsebnosti GABA, zato preučujemo vpliv rastlinskih sestavin na tvorbo prehransko zaželenih poliaminov (Diana in sod., 2014). Ugotovitve bodo podlaga za razvoj proizvodnih protokolov z optimalno stopnjo zakisanja in sušenja, zagotavljanje ustrezne senzorične sprejemljivosti in podaljšane obstojnosti končnih izdelkov.

5 HRANILNA VREDNOST HIBRIDNIH MESNIH IZDELKOV

Hranilne vrednosti hibridnih mesnih izdelkov se lahko močno razlikujejo. V primerjavi s konvencionalnimi mesnimi izdelki vsebujejo več prehranske vlaknine, a manj beljakovin in soli. Ključna ni le vsebnost beljakovin, temveč tudi kakovost maščob (razmerje med nasičenimi in nenasičenimi maščobnimi kislinami), vsebnost ogljikovih hidratov in količina dodanih sladkorjev (Lappi in sod., 2022). Alternativni viri beljakovin pogosto vsebujejo antinutritivne spojine, ki jih v mesu ni. Gre za naravno prisotne snovi v semenih stročnic, ki v telesu nase vežejo hranila (beljakovine, vitamine in minerale) ter posledično vplivajo na zmanjšano absorpcijo v prebavnem traktu. Primeri teh spojin so fitati, fenolne spojine, kot so tanini, lektini, encimski inhibitorji (npr. inhibitor tripsina, inhibitor amilaze), saponini in oksalati (slika 3). Negativne učinke antinutritivnih snovi je mogoče zmanjšati z uporabo različnih postopkov predelave hrane. S tega vidika bi lahko združevanje mesnih beljakovin z alternativnimi viri predstavljalo optimalno rešitev za uravnoteženo hrano z visoko hranilno vrednostjo (Rocchetti in sod., 2023).



Slika 3: Dejavniki, ki vplivajo na hranilno vrednost hibridnih izdelkov (prirejeno po Tkaczewska in sod., 2024)

Alternativne beljakovine so lahko, glede na stopnjo obdelave in čiščenja, dodatni vir številnih dragocenih biološko aktivnih spojin, s čimer potencialno povečajo hranilno vrednost hibridnih mesnih izdelkov. Rastlinski izolati z veliko vsebnostjo beljakovin ter različne vrste gob in alg so odlični viri fenolnih snovi in polifenolov in flavonoidov z dokazanimi zdravju koristnimi učinki. Te spojine imajo tudi protibakterijske in antioksidativne lastnosti, zaradi česar lahko delujejo kot naravni konzervansi. Posledično je količina dodanih konzervansov v tovrstne izdelke manjša, kar je v skladu z zahtevami potrošnikov po »clean label« izdelkih (Carbas in sod., 2023).

5.1 BIOLOŠKA RAZPOLOŽLJIVOST BELJAKOVIN

Priporočeni dnevni vnos beljakovin za odraslo osebo z zmerno telesno dejavnostjo je med 0,8 in 1,0 g/kg telesne mase (Wolfe in sod., 2017). Ključna je ne le količina, temveč tudi kakovost beljakovin, ki jo opredelujeta aminokislinska sestava in prebavljivost. Beljakovine mesa vsebujejo vse esencialne aminokisline, njihova prebavljivost pa je primerljiva ali celo boljša od prebavljivosti jajčnih ali mlečnih beljakovin. Beljakovine rastlinskega izvora, kot so žita, stročnice, oreščki, semena ter zelenjava ali druge alternativne beljakovine pogosto kažejo pomanjkanje pri vsaj eni esencialni aminokislini (Bhat in sod., 2021).

Hibridni mesni izdelki, izdelani iz živalskih beljakovin in dodatkom alternativnih virov beljakovin, lahko zagotavljajo celovit profil esencialnih aminokislin. Pri 50 % zamenjavi svinjskih beljakovin z beljakovinami stročnic lahko zagotovimo popoln profil aminokislin v končnem izdelku (Broucke in sod., 2022). Prav tako so lahko tudi drugi viri alternativnih beljakovin primerni za izdelavo polnovrednih hibridnih izdelkov. Kot primer lahko navedemo vključitev beljakovin iz alg in s tem povečanje vsebnosti aminokislin, predvsem glutaminske kisline, lizina in asparaginske kisline. Na osnovi teh in podobnih študij lahko sklepamo, da je razvoj hibridnih mesnih izdelkov dobra in ekonomsko smiselna strategija v boju proti beljakovinski podhranjenosti v državah v razvoju (Žugčič in sod., 2018).

Med predelavo lahko v mesnih beljakovinah pride do sprememb v njihovi sekundarni, terciarni in kvartarni strukturi. Posledično predvidevamo, da lahko kombiniranje mesa z alternativnimi viri beljakovin vpliva na njihovo prebavljivost (Lee in sod., 2021). Prebavljivost beljakovin iz rastlinskih virov ni tako visoka kot pri beljakovinah iz živalskih virov, zato je koristno poznati biološko razpoložljivost beljakovin v hibridnih izdelkih. Na zmanjšano prebavljivost lahko vpliva prisotnost fenolnih spojin in polifenolov, majhnih polisaharidov in

prehranske vlaknine, ki so sposobne tvoriti netopne komplekse z beljakovinami. Izboljšanje prebavljivosti beljakovin v tovrstnih izdelkih ne pripomore le k zmanjševanju zavržene hrane in podhranjenosti, temveč lahko tudi pozitivno vpliva na zdravje potrošnikov z zmanjšanjem pojavnosti kroničnih nenalezljivih bolezni, zato so raziskave na področju razvoja živil z višjo prebavljivostjo beljakovin vsekakor upravičene. Načrtovani hibridni izdelki morajo imeti ne le visoko hranilno vrednost, temveč tudi dobro prebavljivost in biološko razpoložljivost beljakovin (Simonetti in sod., 2016).

6 OBSTOJNOST HIBRIDNIH MESNIH IZDELKOV

Meso in mesni izdelki so zelo občutljivi za oksidativne spremembe in posledično poslabšanje njihove kakovosti in obstojnosti. V hibridnih izdelkih je stabilnost v veliki meri odvisna od vrste uporabljenih alternativnih beljakovin. Raziskave na področju obstojnosti hibridnih mesnih izdelkov so zelo omejene, vendar so ključne za določitev njihovega roka uporabnosti (Shao in sod., 2021). Han in sod., (2023) so primerjali oksidativno stabilnost hibridnih klobas iz funkcionalne moke čričkov in puste svinjine. Študija je pokazala jasno povezavo med količino dodane moke in povečanjem vsebnosti tiobarbiturne kisline (TBAR) med skladiščenjem. Dodatek moke iz čričkov je pospešil kopičenje sekundarnih produktov lipidne oksidacije, kar je lahko povezano z večjo vsebnostjo večkrat nenasičenih maščobnih kislin v žužkah. Nekatere vrste žuželk imajo dobro antioksidativno aktivnost zaradi prisotnosti flavanolidov, vendar se lahko le-ta izgubi med predelavo moke ali toplotno obdelavo. Podobno je bilo v primeru uporabe šitaki gob kot sestavine v hibridnih mesnih izdelkih, kjer se je prav tako pojavila večja občutljivost teh izdelkov na oksidacijo (Park in sod., 2023). Razlog je v veliki vsebnosti nenasičenih maščobnih kislin v gobah ter njihovi nizki antioksidativni aktivnosti. Tudi beljakovine iz stročnic lahko pospešijo oksidacijo hibridnih mesnih izdelkov. Verjetno gre za posledico delovanja encima lipooksigenaze v stročnicah, ki je odporen na toplotno obdelavo. Po drugi strani pa so semena stročnic bogata s fenolnimi spojinami in polifenoli, naravnimi antioksidanti, kar lahko pozitivno vpliva na oksidativno stabilnost izdelkov.

7 ZAKLJUČEK ALI IZZIVI ZA PRIHODNOST

Hibridni mesni izdelki, ki združujejo mesne in alternativne beljakovine, predstavljajo obetaven korak v živilskopredelovalni industriji z vidika prehranske kakovosti, trajnostne naravnosti ter naslavljanja etičnih in okoljskih vprašanj. Združevanje virov omogoča izboljšanje aminokislinskega profila, povečanje biološke razpoložljivosti izbranih hranil ter zmanjšanje vsebnosti nasičenih maščob, kar lahko prispeva k ugodnejšemu vplivu na javno zdravje. Kljub temu se razvoj hibridnih izdelkov sooča z večplastnimi izzivi, povezanimi s funkcionalnimi lastnostmi matriksov, oksidativno stabilnostjo, zakonodajnimi omejitvami in potrošniško sprejemljivostjo.

Za uspešen prenos teh izdelkov na trg so ključnega pomena nadaljnje raziskave, usmerjene v optimizacijo formulacij, izboljšanje senzoričnih lastnosti, razumevanje medmolekulskih interakcij in zagotavljanje stabilnosti med skladiščenjem. Hkrati je nujno razviti ustrezen zakonodajni okvir, ki bo omogočal regulacijo in enotno klasifikacijo tovrstnih izdelkov. Le z znanstveno utemeljenim in interdisciplinarnim pristopom bo mogoče uveljaviti potencial hibridnih mesnih izdelkov kot trajnostne in zdravstveno ustrezne alternative tradicionalnim mesnim izdelkom.

8 VIRI

- Akhtar Y., Isman M. B. 2018. Insects as an alternative protein source. V: *Proteins in Food Processing*. Yada R. Y. (ur.). 263–288.
- Baune M. C., Jeske A. L., Profeta A., Smetana S., Broucke K., Van Royen G., Terjung N. 2021. Effect of plant protein extrudates on hybrid meatballs – Changes in nutritional composition and sustainability. *Future Foods*, 4: 100081.
- Bhat Z. F., Morton J. D., Bekhit A. E.-D. A., Kumar S., Bhat H. F. 2021. Emerging processing technologies for improved digestibility of muscle proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 110: 226–239. doi: 10.1016/j.tifs.2021.02.010.
- Broucke K., Van Poucke C., Duquenne B., De Witte B., Baune M.-C., Lammers V., Terjung N., Ebert S., Gibis M., Weiss J. 2022. Ability of (extruded) pea protein products to partially replace pork meat in emulsified

- cooked sausages. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 78: 102992. doi: 10.1016/j.ifset.2022.102992.
- Caporgno M. P., Haberkorn I., Böcker L., Mathys A. 2019. Cultivation of *Chlorella protothecoides* under different growth modes and its utilisation in oil/water emulsions. *Bioresource Technology*, 288: 121476. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121476.
- Carbas B., Machado N., Pathania S., Brites C., Rosa E. A., Barros A. I. 2023. Potential of legumes: Nutritional value, bioactive properties, innovative food products, and application of eco-friendly tools for their assessment. *Food Reviews International*, 39(1): 160–188. doi: 10.1080/87559129.2021.1901292.
- Diana M., Quílez J., Rafecas M. 2014. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of Functional Foods*, 10: 407–420. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.004>.
- Ebert S., Jungblut F., Herrmann K., Maier B., Terjung N., Gibis M., Weiss J. 2022. Influence of wet extrudates from pumpkin seed proteins on drying, texture, and appearance of dry-cured hybrid sausages. *European Food Research and Technology*, 248: 1469–1484. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-03974-4>.
- Esper M., Salvador A., Sanz T. 2020. Cellulose ether oleogels obtained by emulsion-templated approach without additional thickeners. *Food Hydrocolloids*, 109: 106085.
- Fu Y., Chen T., Chen S. H. Y., Liu B., Sun P., Sun H., Chen F. 2021. The potentials and challenges of using microalgae as an ingredient to produce meat analogs. *Trends in Food Science & Technology*, 112: 188–200. doi: 10.1016/j.tifs.2021.03.050.
- García-Solivelles S., Li L., Belloch C., Flores M. 2025. Effect of partial substitution of animal by vegetal ingredients on the quality of hybrid dry-fermented sausages. *Applied Food Research*, 5: 100823. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.100823>.
- Grasso S., Goksen G. 2023. The best of both worlds? Challenges and opportunities in the development of hybrid meat products from the last 3 years. *LWT*, 173: 114235. doi: 10.1016/j.lwt.2022.114235.
- Grasso S., Jaworska S. 2020. Part meat and part plant: Are hybrid meat products fad or future? *Foods*, 9(12): 1888.
- Han X., Li B., Puolanne E., Heinonen M. 2023. Hybrid sausages using pork and cricket flour: Texture and oxidative storage stability. *Foods*, 12(6): 1262. doi: 10.3390/foods12061262.
- IPCC. 2022. *Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. V: Contribution of Working Group III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, Cambridge University Press: 1-291. doi: 10.1017/9781009157926.
- Kent M., Welladsen H. M., Mangott A., Li Y. 2015. Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PLOS One*, 10(2): e0118985. doi: 10.1371/journal.pone.0118985.
- Krawczyk A., Fernández-López J., Zimoch-Korzycka A. 2024. Insect protein as a component of meat analogue burger. *Foods*, 13(12): 1806. doi: 10.3390/foods13121806.
- Lappi J., Silventoinen-Veijalainen P., Vanhatalo S., Rosa-Sibakov N., Sozer N. 2022. The nutritional quality of animal-alternative processed foods based on plant or microbial proteins and the role of the food matrix. *Trends in Food Science & Technology*, 129: 144–154. doi: 10.1016/j.tifs.2022.09.020.
- Lee S., Choi Y.-S., Jo K., Yong H. I., Jeong H. G., Jung S. 2021. Improvement of meat protein digestibility in infants and the elderly. *Food Chemistry*, 356: 129707. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129707.
- Lentz G., Connelly S., Miroso M., Jowett T. 2018. Gauging attitudes and behaviours: Meat consumption and potential reduction. *Appetite*, 127: 230–241.
- Li K., Fu L., Zhao Y. Y., Xue S. W., Wang P., Xu X. L., Bai Y. H. 2020. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion. *Food Hydrocolloids*, 98: 105275. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105275.
- McClements D. J., Grossmann L. 2021. The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4): 4049–4100.
- Muñoz-Esparza N.C., Latorre-Moratalla M.L., Comas-Basté O., Toro-Funes N., Veciana-Nogués M.T., Vidal-Carou M.C. 2019. Polyamines in food. *Frontiers in Nutrition*, 6: 108. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00108>.
- Palanisamy M., Töpfl S., Berger R. G., Hertel C. 2019. Physico-chemical and nutritional properties of meat analogs based on *Spirulina*/lupin protein mixtures. *European Food Research and Technology*, 245(9): 1889–1898. doi: 10.1007/s00217-019-03298-w.
- Park G., Oh S., Park S., Kim Y., Park Y., Kim Y., Lee J., Lee H., Choi J. 2023. Physicochemical characteristics and storage stability of hybrid beef patty using shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of Food Quality*, 2023: 1–10. doi: 10.1155/2023/7239709.

- Perez-Montes A., Rangel-Vargas E., Lorenzo J. M., Romero L., Santos E. M. 2021. Edible mushrooms as a novel trend in the development of healthier meat products. *Current Opinion in Food Science*, 37: 118–124. doi: 10.1016/j.cofs.2020.10.004.
- Pintado T., Delgado-Pando G. 2020. Towards more sustainable meat products: Extenders as a way of reducing meat content. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(8): 1044. doi: 10.3390/foods9081044.
- Profeta A., Baune M. C., Smetana S., Broucke K., Van Royen G., Weiss J., Heinz V., Terjung N. 2021. Discrete choice analysis of consumer preferences for meat hybrids – Findings from Germany and Belgium. *Foods*, 10: 71. doi: 10.3390/FOODS10010071.
- Rocchetti G., Ferronato G., Sarv V., Kerner K., Venskutonis P. R., Lucini L. 2023. Meat extenders from different sources as protein-rich alternatives to improve the technological properties and functional quality of meat products. *Current Opinion in Food Science*, 49: 100967. doi: 10.1016/j.cofs.2022.100967.
- Schmidt H. d O., Oliveira V. R. d. 2023. Overview of the incorporation of legumes into new food options: An approach on versatility, nutritional, technological, and sensory quality. *Foods*, 12(13): 2586. doi: 10.3390/foods12132586.
- Shao L., Chen S., Wang H., Zhang J., Xu X., Wang H. 2021. Advances in understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage. *Trends in Food Science & Technology*, 118: 822–832. doi: 10.1016/j.tifs.2021.11.007.
- Simonetti A., Gambacorta E., Perna A. 2016. Antioxidative and antihypertensive activities of pig meat before and after cooking and in vitro gastrointestinal digestion: Comparison between Italian autochthonous pig Suino Nero Lucano and a modern crossbred pig. *Food Chemistry*, 212: 590–595. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.029.
- Tkaczewska J., Mungure T., Warner, R. 2024. Is it still meat? The effects of replacing meat with alternative ingredients on the nutritional and functional properties of hybrid products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2430750>
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. 2019. World Population Prospects 2019: Highlights. ST/ESA/SER.A/423.
- Verain M. C., Dagevos H., Jaspers P. 2022. Flexitarianism in the Netherlands in the 2010 decade: Shifts, consumer segments and motives. *Food Quality and Preference*, 96: Article 104445.
- Vermeulen S. J., Campbell B. M., Ingram J. S. 2012. Climate change and food systems. *Annual review of environment and resources*, 37: 195–222.
- Wang M., Zhou J., Tavares J., Pinto C. A., Saraiva J. A., Prieto M. A., Cao H., Xiao J., Simal-Gandara J., Barba F. J. 2023. Applications of algae to obtain healthier meat products: A critical review on nutrients, acceptability and quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(26): 8357–8374. doi: 10.1080/10408398.2022.2054939.
- Wang T., Kaur L., Furuhashi Y., Aoyama H., Singh J. 2022. 3D printing of textured soft hybrid meat analogues. *Foods*, 11(3): 478.
- Wolfe R. R., Cifelli A. M., Kostas G., Kim I. Y. 2017. Optimizing protein intake in adults: Interpretation and application of the recommended dietary allowance compared with the acceptable macronutrient distribution range. *Advances in Nutrition*, 8(2): 266–275. doi: 10.3945/an.116.013821.
- Žugčič T., Abdelkebir R., Barba F. J., Rezek-Jambrak A., Gálvez F., Zamuz S., Granato D., Lorenzo J. M. 2018. Effects of pulses and microalgal proteins on quality traits of beef patties. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11): 4544–4553. doi: 10.1007/s13197-018-3390-9.

UPORABA BAKTERIJ *BACILLUS SUBTILIS* PS-216 ZA IZBOLJŠANJE PRIREJE, VARNOSTI IN KAKOVOSTI PIŠČANČJEGA MESA

Katarina ŠIMUNOVIĆ¹, Sonja SMOLE MOŽINA² in Ines MANDIĆ MULEC³

Povzetek: Širjenje proti antibiotikom odpornih patogenih bakterij v živinoreji in celotni verigi preskrbe z živili živalskega porekla predstavlja resen in vse bolj razširjen globalni problem. Strožji predpisi ter zdravstveni in ekonomski pomisleki glede uporabe antibiotikov v živinoreji so spodbudili raziskave alternativnih rešitev, med katerimi je uporaba probiotikov ena izmed obetavnih možnosti. Probiotiki so živi mikroorganizmi, ki koristijo gostitelju, med drugim tudi z zaviralnim učinkom na patogene bakterije. Znanje o bakterijskih interakcijah je zato ključno za razvoj novih probiotikov. Raziskovali smo vpliv bakterijskih izolatov *Bacillus subtilis* na rast patogenih bakterij (*Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*) in ugotovili, da ima sev *B. subtilis* PS-216 velik potencial za omejevanje teh živilskih patogenov. V razmerah *in vitro* smo dokazali, da sev PS-216 zavira rast in razvoj biofilmov *C. jejuni*, kar smo potrdili tudi *in vivo*, v pitovnih piščancih. Piščanci, ki so z vodo prejeli spore PS-216, so imeli statistično značilno manjšo kolonizacijo s tem patogenom. Ugotovili smo tudi, da spore PS-216 izboljšajo prirast živali in parametre kakovosti piščančjega mesa. Dosedanji poskusi potrjujejo, da je *B. subtilis* PS-216 dober probiotik za piščance.

Ključne besede: *Bacillus subtilis* PS-216, probiotik, piščanci, varnost živil, kakovost piščančjega mesa

USE OF *BACILLUS SUBTILIS* PS-216 STRAIN TO IMPROVE THE PRODUCTION, SAFETY AND QUALITY OF CHICKEN MEAT

Abstract: The spread of resistant pathogenic bacteria in livestock production and the whole meat production and supply chain is a serious and increasingly widespread global problem. Stricter regulations and health and economic concerns about the use of antibiotics have prompted research into alternative solutions, of which the use of probiotics is among the most promising options. Probiotics are live micro-organisms that benefit the host, among other mechanisms also with inhibition of pathogenic bacteria. Knowledge of bacterial interactions is therefore crucial for the development of new probiotics. We investigated the effect of *Bacillus subtilis* isolates on the growth of pathogenic bacteria (*Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*) and found that *B. subtilis* strain PS-216 has a high potential to limit these food pathogens. Under *in vitro* conditions, PS-216 was shown to inhibit the growth and development of *C. jejuni* biofilms, which was also confirmed *in vivo*, in broiler chickens. Chickens receiving PS-216 spores in drinking water had significantly lower colonisation with this pathogen. We also found that PS-216 spores improved animal growth and some quality parameters of chicken meat. The experiments to date confirm that *B. subtilis* PS-216 is a good probiotic for chickens.

Keywords: *Bacillus subtilis* PS-216, probiotic, chicken, food safety, chicken meat quality

¹ asist. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, Ljubljana, email: katarina.simunovic@bf.uni-lj.si

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

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, Ljubljana, email: ines.mandicmulec@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Naraščanje protimikrobne odpornosti patogenih bakterij predstavlja resen in vse bolj razširjen globalni problem. Posledično je okužbe z odpornimi bakterijami pri živalih in ljudeh težko ali nemogoče zdraviti. Preventivna uporaba antibiotikov in uporaba antibiotikov kot spodbujevalcev rasti pri rejnih živalih sta glavna dejavnika, ki prispevata k protimikrobni odpornosti, ki je danes globalni problem. Leta 2006 je Evropska Unija (EU) omejila uporabo antibiotikov z Uredbo 1831/2003/ES o dodatkih za uporabo v prehrani živali. Ta prvi korak je EU nadgradila leta 2019 z Uredbo 2019/4 o krmi z zdravili in Uredbo 2019/6 o zdravilih za uporabo v veterinarski medicini. Podobne ukrepe so leta 2017 sprejeli tudi v Združenih Državah Amerike (ZDA) na podlagi Smernic za industrijo (Guidance for industry; GFI) GFI#213, pri čemer se pričakuje, da jim bodo sledile tudi druge države. Pred sprejetjem omenjenih uredb so v EU in ZDA antibiotike uporabljali v reji živali, vključno s perutnino, za pridobivanje teže, povečanje učinkovitosti pretvorbe krme in zmanjšanje tveganja za okužbe. Omejitve uporabe antibiotikov kot krmnih dodatkov so skupaj z vse večjim povpraševanjem po varnosti in trajnosti hrane povečale tudi potrebo po alternativnih pospeševalcih rasti ter po novih postopkih za izboljšanje splošnega zdravja in preprečevanje bolezni piščancev v perutninski industriji (Abd El-Hack in sod., 2022). Uporaba probiotikov kot krmnih dodatkov in alternativnih pristopov za izboljšanje zdravja živali zato vse bolj pridobiva na veljavi.

Probiotiki so živi mikroorganizmi za katere so dokazani pozitivni učinki na zdravje in počutje človeka in/ali živali. Danes rejci perutnine vse bolj uporabljajo probiotike kot nadomestke za spodbujanje rasti, imunomodulacijo in zaviranje škodljivih bakterij (patogenov), ki povzročajo bolezni. Probiotiki na različne načine zavirajo rast patogenih bakterij. Med te štejemo indirektno tekmovalno za hranila in kolonizacijo v gostitelju ali pa aktivno zaviranje rasti patogena z izločanjem organskih kislin in drugih protibakterijskih snovi (antibiotikov, bakteriocinov), ki se izločajo v okolico in tudi bakterijskih toksinov, ki jih probiotik direktno vbrizga v patogeno bakterijo (Ghoul in Mitri, 2016). Številni probiotiki tudi pozitivno vplivajo na imunski sistem gostitelja, da ta bolj učinkovito odstranjuje neželene in škodljive mikrobe (Abd El-Hack in sod., 2020; Sachdeva in sod., 2025).

Najbolj pogosto uporabljeni probiotiki v perutninski industriji so kvasovke (*Saccharomyces* spp., *Candida* spp.) in bakterije (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp. in *Bacillus* spp.). (Abd El-Hack in sod., 2022; Cutting, 2011; Dong in sod., 2024). Probiotiki iz rodu *Bacillus* imajo veliko prednost pred drugimi, ker so se te bakterije sposobne pretvoriti v endospore, ki so zelo odporne oblike preživetja, saj preživijo segrevanje nad 100 °C, visoke pritiske, brez hrane in vode. Zato je te pripravke enostavneje pridelati in skladiščiti, saj ohranjajo živost pri prehodu skozi prebavila, kar zagotavlja učinkovito kolonizacijo črevesa in delovanje. Poleg tega lahko že spore delujejo kot imunomodulatorji in pripomorejo k trajnosti perutninske proizvodnje. Probiotični pripravki z bakterijami *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* in *B. cereus* var Toyi se v perutninski industriji že uporabljajo. Vendar so sevi kvasovk in bakterij po učinkovitosti zelo variabilni (Arif in sod., 2021; Caulier in sod., 2019; Cutting, 2011), še manj je znanega o interakcijah med različnimi probiotiki, ki jih dodajajo v krmo. Področje raziskav mikrobnih interakcij, poznanih tudi kot socialne interakcije mikroorganizmov, ki so sposobni komunikacije, sodelovanja a tudi napada, je zato v porastu (Arnaouteli in sod., 2021; Kalamara in sod., 2018).

Raziskovalci pod vodstvom prof. dr. Ines Mandić Mulec iz Oddelka za Mikrobiologijo so iz peščenih tal na obrežju reke Save v Sloveniji izolirali različne seve bakterij vrste *B. subtilis* z namenom raziskovanja bakterijske socialnosti (Belcijan Pandur in sod., 2024; Kraigher in sod., 2021; Stefanic in sod., 2015; Stefanic in Mandić-Mulec, 2009). Med izoliranimi sevi izstopa *B. subtilis* PS-216 s svojim močnim protimikrobnim delovanjem proti patogenim bakterijam (Erega in sod., 2021, 2022; Kovačec in sod., 2024; Podnar in sod., 2022, 2025; Šimunović, in sod., 2022a, 2022b). To znanje o antagonističnih bakterijskih interakcijah lahko uporabimo tudi pri razvoju novih probiotikov za omejevanje patogenih bakterij v okolju in gostiteljih ter za izboljšanje zdravja gostitelja.

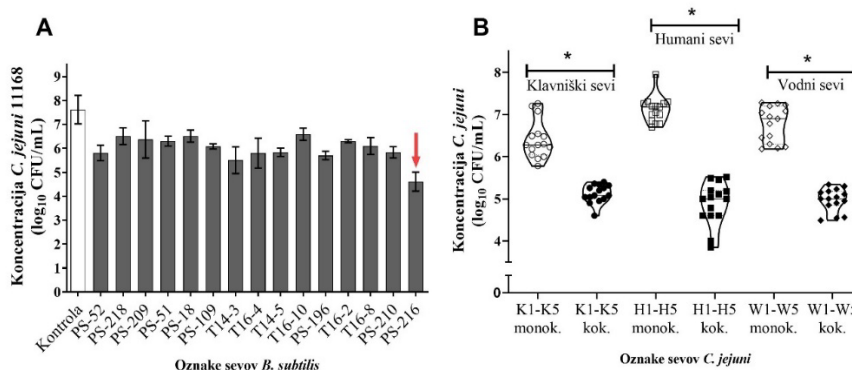
2 PROTIMIKROBNO DELOVANJE BAKTERIJ *B. subtilis* PROTI PATOGENI BAKTERIJI *C. jejuni*

Bakterija *C. jejuni* je v razvitih državah glavna povzročiteljica kampilobakterioze, najpogostejše oblike bakterijskega gastroenteritisa (vnetje prebavil) pri ljudeh. *C. jejuni* je del naravne mikrobiote perutnine, najdemo

jo tudi v rejnih, domačih in divjih živali. Najpogostejši vektor za prenos okužbe je kontaminirano piščančje meso. Število obolelih s kampilobakteriozo presega 200.000 oseb na leto v EU. Vse večji izziv pa predstavlja tudi odpornost bakterij *C. jejuni* proti antibiotikom. Finančno breme, povezano z okužbami, pa znaša več kot 2,4 milijarde evrov letno. Po ocenah Panela za biološka tveganja Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) bi zmanjšanje števila bakterije *C. jejuni* za eno logaritemsko enoto v slepem črevesju piščancev zmanjšalo tveganje za okužbo za več kot 50 %. Slepo črevo (cekum) piščancev je primarni rezervoar *C. jejuni*, kjer ta lahko doseže koncentracijo 10^8 kolonijskih enot (CFU)/g vsebine slepega črevesja (EFSA, 2024; EFSA in sod., 2020).

Namen raziskave je bil preizkusiti različne seve *B. subtilis* za njihovo delovanje proti *C. jejuni* *in vitro*, ter izbira najboljšega za nadaljnje študije vrednotenja probiotičnega delovanja *B. subtilis*. Testi ko-kultivacije so potekali v bogatem tekočem gojišču Mueller Hinton (MH) v začetnem razmerju patogen:probiotik 10:1, s čimer smo dali nekaj prednosti *C. jejuni*. Kultivacija je potekala pri 42 °C v mikroaerofilnih razmerah, ki ponazarjajo razmere piščančjega črevesja (Šimunović in sod., 2022b).

Probiotične bakterije lahko izkazujejo vrstno specifično in sevno specifično delovanje proti *C. jejuni*, tako *in vitro* kot v piščančjem gostitelju (Mohan, 2015; Mortada in sod., 2020). V tej študiji smo ugotovili, da večina testiranih sevov *B. subtilis* (12 od 15) zavira rast *C. jejuni* NCTC11168, vendar je stopnja zaviranja različna (Slika 1A).



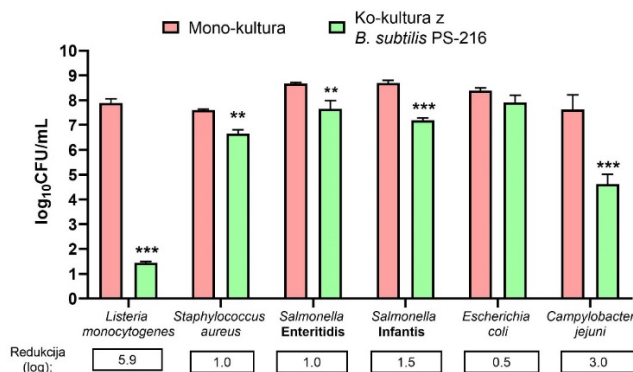
Slika 1. (A) Koncentracija *C. jejuni* (log CFU/mL) po 24h inkubaciji v monokulturi (kontrola) in ko-kulturi z različnimi sevi *B. subtilis* in (B) Koncentracija sevov (klavniški, humani in vodni) *C. jejuni* (log CFU/mL) po 24h inkubaciji v monokulturi (kontrola) in ko-kulturi z *B. subtilis* PS-216 (povzeto po Šimunović, 2022a).

Sev *B. subtilis* PS-216 je bil najboljši zaviralec rasti tega patogena (Slika 1A). Zato smo njegovo delovanje dodatno testirali in potrdili proti 15 različnim sevom *C. jejuni* iz različnih okolij (humani klinični, klavniški in okoljski (vodni) sevi). Opazili smo podobno aktivnost PS-216 proti vsem testiranim sevom *C. jejuni*; tj. zaviranje rasti *C. jejuni* v ko-kulturi z *B. subtilis* PS-216 je bilo statistično značilno, ne glede na izvor *C. jejuni* (Slika 1B). To je potrdilo širok učinek seva *B. subtilis* PS-216 proti *C. jejuni* *in vitro* ter poudarilo potencial tega seva za uporabo v okoljih z visoko obremenitvijo s *C. jejuni*, kot je perutninski prebavni trakt.

3 POTRDIČEV DELOVANJA *B. subtilis* PS-216 PROTI DRUGIM PATOGENIM BAKTERIJAM, KI SE PRENAŠAJO S HRANO

Rejne živali, njihovo življenjsko okolje ter tudi živilsko predelovalna območja so lahko vir mnogih patogenih bakterij, ki se lahko prenašajo s hrano in povzročijo bolezen (EFSA, 2024). Zato smo delovanje *B. subtilis* PS-216 preverili tudi proti drugim patogenim bakterijam, ki se prenašajo s hrano, in sicer proti bakterijam *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *S. enterica* serovar Infantis, *Escherichia coli* ter kot kontrolo za primerjavo tudi *C. jejuni* (Mandić-Mulec in sod., 2021). Ugotovili smo, da *B. subtilis* PS-216 značilno zmanjša rast *Staph. aureus*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis* in *E. coli* (Slika 2). Najmočnejši učinek smo zaznali proti *L. monocytogenes* (zmanjšanje za 5,9 logaritemskih enot v primerjavi z monokulturo),

najšibkejši pa proti *E. coli*. Podnar in sod., (2022), pa so delovanje potrditi tudi proti *S. Typhimurium*. S tem smo potrdili širok spekter delovanja *B. subtilis* PS-216 proti črevesnim patogenim bakterijam, ki se prenašajo s hrano.

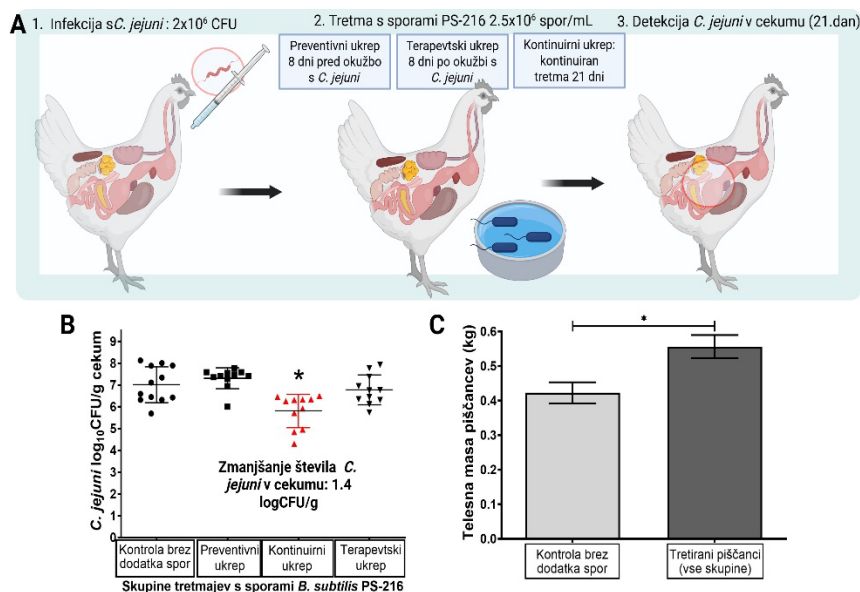


Slika 2. Rast patogenih bakterij *L. monocytogenes*, *Staph. aureus*, *S. enterica* serovar Enteritidis, *S. enterica* serovar Infantis, *E. coli* ter *C. jejuni* v mono-kulturi in v ko-kulturi z *B. subtilis* PS-216 (log CFU/mL). Statistično značilna razlika med mono- in ko-kulturo je prikazana z ** $p < 0,01$ in * $p < 0,001$ (povzeto po Mandić-Mulec in sod., 2021).**

Mehanizem delovanja *B. subtilis* PS-216 proti *C. jejuni* vključuje proizvodnjo protimikrobnih spojin bacilen in bacilizin (Erega in sod., 2021, 2022); proti *S. enterica* pa bacilen, ki zavira rast tega patogena predvsem v okolju, bogatem s hranili (Podnar in sod., 2022, 2025). Vemo, da *B. subtilis* PS-216 lahko proizvaja tudi druge protimikrobne spojine, kot so surfaktin, bacilozin in plipastatin (Durrett in sod., 2013; Podnar in sod., 2022), vendar je vključenost teh v mehanizme delovanja proti drugim patogenim bakterijam še potrebno proučiti.

4 DELOVANJE *B. subtilis* PS-216 PROTI *C. jejuni* IN VIVO V PITOVIH PIŠČANCIH

Po oceni EFSA Panela za biološka tveganja bi zmanjšanje števila bakterije *C. jejuni* za eno logaritemsko enoto v slepem črevesju piščancev lahko zmanjšalo tveganje za okužbo za več kot 50 %, saj bi se posledično manj bakterij lahko preneslo iz črevesja na kožo in meso ter do končnega uporabnika (EFSA in sod., 2020). Zato je izjemno pomembno razviti dober probiotik, ki je zmožen zmanjšati koncentracijo *C. jejuni* v slepem črevesju živali. V študiji *in vivo* v *C. jejuni* infekcijskem modelu (namerna okužba piščancev s *C. jejuni* s $2,5 \times 10^6$ celic/piščanca) smo ocenili uporabo spor *B. subtilis* PS-216 za preprečevanje ali zmanjševanje kolonizacije s *C. jejuni* pri pitovnih piščancih ter njihov vpliv na povečanje telesne mase piščancev (Šimunović in sod., 2022a). Spore *B. subtilis* PS-216 smo dodali pitni vodi v koncentraciji $2,5 \times 10^6$ spor/mL: (i) pred inokulacijo s *C. jejuni*, kot preventivni ukrep; (ii) po vzpostavljeni kolonizaciji s *C. jejuni*, kot terapevtski ukrep; in (iii) stalno od prvega dne, kot kontinuiran ukrep. Ta študija na živalih je dala dva pomembna zaključka: (i) kontinuirano zdravljenje s sporami *B. subtilis* PS-216 je statistično značilno zmanjšalo število *C. jejuni* v slepem črevesu piščancev ($1,4 \log \text{ CFU/g}$, $p < 0,05$), čeprav preventivna (pred kolonizacijo s *C. jejuni*) in terapevtska (po kolonizaciji s *C. jejuni*) uporaba *B. subtilis* pri uporabljeni koncentraciji spor *B. subtilis* PS-216 ni bila učinkovita. Poleg tega je (ii) kratkotrajno zdravljenje v vseh tretmajih povzročilo povečanje teže piščancev v primerjavi s kontrolo (Slika 3).

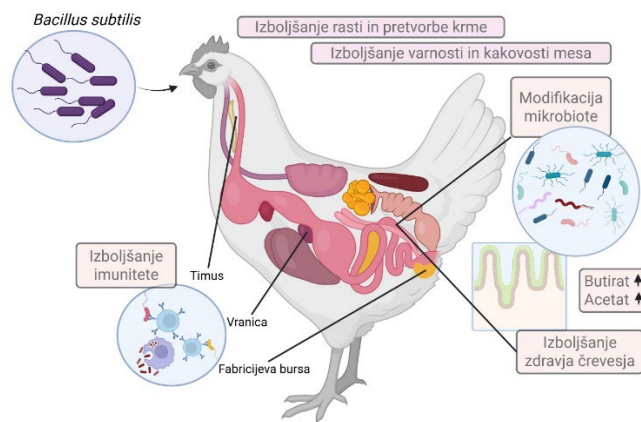


Slika 3. (A) Shematski prikaz infekcijskega modela za študijo delovanja probiotika *B. subtilis* PS-216 na piščance namerno okužene s *C. jejuni*. (B) Koncentracija *C. jejuni* v slepem črevesju piščancev (*C. jejuni* log CFU/g cekuma), tretiranih z *B. subtilis* PS-216 in (C) Telesna masa piščancev (kg) kontrolne skupine in piščancev, tretiranih z *B. subtilis* PS-216. Statistično značilna razlika med tretiranimi skupinami v primerjavi s kontrolo je prikazana s $*p < 0,05$. Slika je ustvarjena z uporabo programa BioRender (app.biorender.com).

Presenetljivo je, da se je celo pri 8-dnevnem kot tudi 21-dnevnem tretmaju znatno izboljšala telesna teža. Tako uporaba spor *B. subtilis* PS-216 perutninski industriji ponuja različne možnosti: kratkoročno uporabo, ki se lahko izvaja za povečanje telesne mase piščancev, in stalno uporabo, ki lahko poleg povečanja telesne mase zmanjša tudi število *C. jejuni* in izboljša varnost živil (Šimunović in sod., 2022b).

5 VPLIV NA GOSTITELJA: IZBOLJŠANJE PRIREJE PITOVIH PIŠČANCEV IN KAKOVOSTI PIŠČANČJEGA MESA S KRMNIMI DODATKI NA OSNOVI *B. subtilis* PS-216

Dodajanje probiotikov kot dodatkov za krmo/vodo je lahko dobra strategija za nadzor *C. jejuni*. Pokazalo pa se je, da imajo probiotiki *B. subtilis* lahko, poleg obvladovanja patogenih bakterij, tudi različne učinke na gostitelja, vključno z modulacijo črevesne mikrobiote, imunskega odziva, izboljšanim razvojem mišic in posledično lahko tudi kakovosti mesa (Slika 4) (Cutting, 2011; EFSA in sod., 2020; Hayashi in sod., 2018).



Slika 4. Shematski prikaz različnih načinov delovanja probiotika *B. subtilis*. Slika je ustvarjena z uporabo programa BioRender (app.biorender.com).

Imunomodulatorni učinki se lahko kažejo v povečani teži limfatičnih organov, kot so vranica, Fabricijeva burza in timus, ter v spremembah ravni imunoglobulinov in interlevkinov. Probiotiki na osnovi *B. subtilis* lahko sprožijo povečanje teh organov in s tem izboljšanje imunskega odziva na različne infekcijske bolezni. Na splošno zdravstveno in imunsko stanje živali močno vpliva stanje črevesja, vključno s histologijo in morfologijo epitela, sestavo mikrobioma in profilom hlapnih maščobnih kislin. Stanje črevesnih resic in kript vpliva na absorpcijo hranil in obnavljanje tkiv, skrajšanje črevesnih resic pa lahko povzroči slabšo odpornost piščanca. Probiotiki *B. subtilis* lahko izboljšajo višino resic in globino kript in s tem tudi presnovo in absorpcijo snovi v črevesju (Guo in sod., 2016, 2020; Liao in sod., 2020; Nguyen in sod., 2021).

Profil kratkoverižnih maščobnih kislin (*angl.* short chain fatty acids oz. SCFA) v slepem črevesu je še en pomemben kazalnik zdravja črevesja piščancev. Pri piščancih je mogoče SCFA zaznati tudi zunaj črevesja v drugih delih telesa, na njihovo proizvodnjo pa neposredno vpliva črevesna mikrobiota (Saint-Martin in sod., 2024). Z dodatkom probiotikov lahko pride do koristnih sprememb SCFA, ki se kažejo v povečanih koncentracijah acetata in butirata ter zmanjšanih koncentracijah izo-butarata in izo-valerata. Te spremembe kažejo na izboljšano zdravje črevesja piščancev, pozitiven premik k fermentaciji ogljikovih hidratov in zmanjšano fermentacijo beljakovin, kar ustvarja ugodnejše okolje za koristne člane mikrobiote, hkrati pa omejuje patogene bakterije (Liao in sod., 2020; Liu in sod., 2021). Butirat je opredeljen kot eden glavnih dejavnikov, ki prispevajo k zdravju gostitelja, saj lahko izboljša prirast piščancev, ima protivnetne lastnosti, prispeva k oblikovanju tesnih stikov med črevesnimi celicami in proizvodnji sluzi (Chen in sod., 2019; Onrust in sod., 2015). Butirat je pomemben za nadzor patogenih bakterij, kot sta *Salmonella* sp. in *Clostridium* sp. v črevesju, vpliva pa tudi na celične in molekularne procese v piščančjih pljučih (Fukuda in sod., 2011; Saint-Martin in sod., 2024). Acetat prispeva k energijski presnovi, vendar tudi omejuje preživetja črevesnega patogena *E. coli*. Nasprotno pa večja koncentracija izo-butarata pozitivno korelira s patogeni *Escherichia-Shigella* in negativno s koristnimi *Lactobacillus* sp. (Liao in sod., 2020; Liu in sod., 2021).

Pri novo izvaljenih pitovnih piščancih je slepo črevo rezervoar mikrobov za črevesno kolonizacijo, ki že vsebuje mikrobioto, v kateri prevladujeta Pseudomonadota (proteobakterije) in Bacillota (Firmicutes), medtem ko so drugi deli črevesa (ileum, jejunum, duodenum) šibko kolonizirani. Ta sestava se s starostjo spreminja, saj do 21. dne prevladujejo predstavniki debel Bacillota z Mycoplasmatota (Tenericutes), po 42 dneh pa Bacteroidetes in Bacillota z manj Pseudomonadota (Liao in sod., 2020; Neijat in sod., 2019). Sestava in delovanje črevesne mikrobiote sta bistvenega pomena za dobro počutje piščancev. Stres lahko sproži zmanjšanje filogenetske raznolikosti in vrstne bogatost mikrobiote ter razrast škodljivih vrst mikroorganizmov, kar lahko privede do razvoja bolezni in zmanjšanja produktivnosti jate (Dittoe in sod., 2022). Zato je ohranjanje stabilne mikrobiote, obogatene s posebnimi funkcionalno pomembnimi taksonomskimi skupinami, bistveno za spodbujanje zdrave reje piščancev in zagotavljanje proizvodnje kakovostnih in varnih mesnih izdelkov.

Na učinke probiotikov na osnovi bakterij oziroma spor vrste *B. subtilis* vplivajo lastnosti specifičnega seva. Vendar probiotiki, ki pozitivno vplivajo na pretvorbo krme in zdravstvene parametre pri pitovnih piščancih, običajno spodbujajo mikrobioto v slepem črevesu piščanca k povečani proizvodnji butirata (Guo in sod., 2020; Onrust in sod., 2015). Sestava in delovanje mikrobiote slepega črevesa sta zato zelo pomembna ne le za zdravje črevesja, temveč tudi za splošno zdravje gostitelja. Črevesna mikrobiota in njeni metaboliti, zlasti butirat, znatno povečajo imunski odziv na okužbo s ptičjo gripo v pljučih piščancev. Danes prevladuje prepričanje, da je pravilna modulacija črevesne mikrobiote ključ za izboljšanje systemskega zdravja piščancev in posledično preprečevanja bolezni (Saint-Martin in sod., 2024). Splošno zdravstveno stanje piščancev lahko vpliva tudi na kakovost mesa. Čeprav se parametri kakovosti mesa lahko razlikujejo glede na genetiko živali in vplivajo na preference potrošnikov, ki se razlikujejo po regijah, so ključni kazalniki barva, pH, izceja in električna prevodnost. Probiotiki lahko ugodno vplivajo na organizem in s tem lahko izboljšajo kakovost mesa (Biswas in sod., 2023; Dong in sod., 2024; Lee in sod., 2022).

Probiotiki na osnovi spor *B. subtilis* lahko zaradi izločanja številnih encimov in različnih protimikrobnih spojin pospešujejo rast, pretvorbo krme in telesno maso pri piščancih s splošnim izboljšanjem zdravja piščanca in

zaviranjem razrasti škodljivih bakterij (Dong in sod., 2024; Fritts in sod., 2000; Park in sod., 2017). Čeprav lahko takšen poseg (dodajanje probiotikov v krmo ali vodo) nekoliko poveča proizvodne stroške in posledično ceno hrane na trgu, je lahko to stroškovno učinkovit poseg, če aplikacija zmanjša tveganje za razširjanje patogenih bakterij in izboljša rast (van Wagenberg in sod., 2020).

6 ZAKLJUČEK

B. subtilis PS-216 je dobro raziskan laboratorijski sev, izoliran iz peščenih tal obrežja reke Save v Sloveniji. Na voljo je poglobljeno znanje o molekularnem komuniciranju ter interakcijah med sevi znotraj vrste in interakcijami z patogenimi mikrobi. Z obširnimi študijami smo pokazali tudi na probiotični učinek *B. subtilis* PS-216. Probiotični učinek mikroorganizmov na sploh in tudi bakterij *B. subtilis* je sečno specifičen. Trenutno na področju razvoja učinkovitih probiotikov primanjkuje temeljnih raziskav o molekularnih lastnostih posameznih sevov, ki usmerjajo njihove interakcije s patogenimi in koristnimi mikroorganizmi ter hkraten uvid v delovanje teh mikrobov *in vivo* (npr. v črevesju rejnih živali). Priprava učinkovitejših pripravkov naslednje generacije, ki so sestavljeni iz različnih mikrobnih vrst ali sevov bo zato zahtevala nadaljnje raziskave mikrobne socialnosti in razumevanje evolucije in stabilnosti lastnosti koristnih bakterij v prisotnosti patogenih mikroorganizmov *in vitro* in črevesni mikrobioti gostiteljskega organizma.

7 ZAHVALA

Raziskave, vezane na študije bakterijskih interakcij patogenih bakterij in probiotičnih *B. subtilis*, so bile financirane iz projektov Agencije za znanstveno-raziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) J4-50134 (Šimunović K.), J4-4550 (Mandić Mulec I.), J4-2542 (Smole Možina S.), J4-7637 (Mandić Mulec I.) in programa P4-0116 (Mandić Mulec I.).

8 VIRI

- Abd El-Hack M. E., El-Saadony M. T., Salem H. M., El-Tahan A. M., Soliman M. M., Youssef G. B. A., Taha A. E., Soliman S. M., Ahmed A. E., El-Kott A. F., Al Syaad K. M., Swelum A. A. 2022. Alternatives to antibiotics for organic poultry production: Types, modes of action and impacts on bird's health and production. *Poultry Science*, 101(4), 101696. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101696>
- Arif M., Akteruzzaman M., Tuhin-Al-Ferdous Islam S. S., Das B. C., Siddique M. P., Kabir S. M. L. 2021. Dietary supplementation of *Bacillus*-based probiotics on the growth performance, gut morphology, intestinal microbiota and immune response in low biosecurity broiler chickens. *Veterinary and Animal Science*, 14, 100216. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100216>
- Arnaouteli S., Bamford N. C., Stanley-Wall N. R., Kovács Á. T. 2021. *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 19(9), 600–614. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00540-9>
- Belcijan Pandur K., Kraigher B., Tomac A., Stefanic P., Mandic Mulec I. 2024. Nonkin interactions between *Bacillus subtilis* soil isolates limit the spread of swarming deficient cheats. *The ISME Journal*, 18(1), wræ199. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae199>
- Biswas S., Kim M. H., Baek D. H., Kim I. H. 2023. Probiotic mixture (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) a potential in-feed additive to improve broiler production efficiency, nutrient digestibility, caecal microflora, meat quality and to diminish hazardous odour emission. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 107(4). <https://doi.org/10.1111/jpn.13784>
- Caulier S., Nannan C., Gillis A., Licciardi F., Bragard C., Mahillon, J. 2019. Overview of the Antimicrobial Compounds Produced by Members of the *Bacillus subtilis* Group. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00302>
- Chen L., Sun M., Wu W., Yang W., Huang X., Xiao Y., Ma C., Xu L., Yao S., Liu Z., Cong Y. 2019. Microbiota Metabolite Butyrate Differentially Regulates Th1 and Th17 Cells' Differentiation and Function in Induction of Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 25(9). <https://doi.org/10.1093/ibd/izz046>
- Cutting S. M. 2011. *Bacillus* probiotics. *Food Microbiology*, 28(2). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>
- Dittoe D. K., Olson E. G., Ricke S. C. 2022. Impact of the gastrointestinal microbiome and fermentation metabolites on broiler performance. *Poultry Science*, 101(5), 5. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101786>

- Dong S., Li L., Hao F., Fang Z., Zhong R., Wu J., Fang X. 2024. Improving quality of poultry and its meat products with probiotics, prebiotics, and phytoextracts. *Poultry Science*, 103(2). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103287>
- Durrett R., Miras M., Mirouze N., Narechania A., Mandic-Mulec I., Dubnau D. 2013. Genome Sequence of the *Bacillus subtilis* Biofilm-Forming Transformable Strain PS216. *Genome Announcements*, 1(3). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00288-13>
- EFSA. 2024. The European Union One Health 2023 Zoonoses report. *EFSA Journal*, 22(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>
- EFSA (BIOHAZ), Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordóñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Davies R., De Cesare A., Herman L., Hilbert F., Lindqvist R., Nauta M., Peixe L., Ru G., Simmons M., Skandamis P., Suffredini E., Alter T., Crotta M., Chemaly M. 2020. Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. *EFSA Journal*, 18(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6090>
- Erega A., Stefanic P., Danevčič T., Smole Možina S., Mandic Mulec I. 2022. Impact of *Bacillus subtilis* Antibiotic Bacilysin and *Campylobacter jejuni* Efflux Pumps on Pathogen Survival in Mixed Biofilms. *Microbiology Spectrum*, 10(4). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02156-22>
- Erega A., Stefanic P., Dogsa I., Danevčič T., Simunovic K., Klančnik A., Smole Možina S., Mandic Mulec I. 2021. *Bacillaene* Mediates the Inhibitory Effect of *Bacillus subtilis* on *Campylobacter jejuni* Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(12). <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-20>
- Fritts C. A., Kersey J. H., Motl M. A., Kroger E. C., Yan F., Si J., Jiang Q., Campos M. M., Waldroup A. L., Waldroup P. W. 2000. *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) Improves Live Performance and Microbiological Status of Broiler Chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 9(2). <https://doi.org/10.1093/japr/9.2.149>
- Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K., Tobe T., Clarke J. M., Topping D. L., Suzuki T., Taylor T. D., Itoh K., Kikuchi J., Morita H., Hattori M., Ohno H. 2011. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*, 469(7331). <https://doi.org/10.1038/nature09646>
- Ghoul M., Mitri S. 2016. The Ecology and Evolution of Microbial Competition. *Trends in Microbiology*, 24(10). <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.011>
- Guo M., Hao G., Wang B., Li N., Li R., Wei L., Chai T. 2016. Dietary Administration of *Bacillus subtilis* Enhances Growth Performance, Immune Response and Disease Resistance in Cherry Valley Ducks. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1975. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01975>
- Guo M., Li M., Zhang C., Zhang X., Wu Y. 2020. Dietary Administration of the *Bacillus subtilis* Enhances Immune Responses and Disease Resistance in Chickens. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01768>
- Hayashi R. M., Lourenço M. C., Kraieski A. L., Araujo R. B., Gonzalez-Esquerria R., Leonardecz E., da Cunha A. F., Carazzolle M. F., Monzani P. S., Santin E. 2018. Effect of Feeding *Bacillus subtilis* Spores to Broilers Challenged with *Salmonella enterica* serovar Heidelberg Brazilian Strain UFPR1 on Performance, Immune Response, and Gut Health. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 13. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00013>
- Kalamara M., Spacapan M., Mandic-Mulec I., Stanley-Wall N. R. 2018. Social behaviours by *Bacillus subtilis*: Quorum sensing, kin discrimination and beyond. *Molecular Microbiology*, 110(6). <https://doi.org/10.1111/mmi.14127>
- Kovačec E., Kraigher B., Podnar E., Lories B., Steenackers H., Mandic-Mulec I. 2024. *Bacillus subtilis* Intraspecies Interactions Shape Probiotic Activity Against *Salmonella Typhimurium*. *Microbial Biotechnology*, 17(12). <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70065>
- Kraigher B., Butolen M., Stefanic P., Mandic Mulec I. 2021. Kin discrimination drives territorial exclusion during *Bacillus subtilis* swarming and restrains exploitation of surfactin. *The ISME Journal*. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01124-4>
- Lee S.-K., Chon J.-W., Yun Y.-K., Lee J.-C. Jo C., Song K.-Y., Kim D.-H., Bae D., Kim H., Moon J.-S., Seo K.-H. 2022. Properties of broiler breast meat with pale color and a new approach for evaluating meat freshness in poultry processing plants. *Poultry Science*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101627>
- Liao X., Shao Y., Sun G., Yang Y., Zhang L., Guo Y., Luo X., Lu L. 2020. The relationship among gut microbiota, short-chain fatty acids, and intestinal morphology of growing and healthy broilers. *Poultry Science*, 99(11). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.033>
- Liu L., Li Q., Yang Y., Guo A. 2021. Biological Function of Short-Chain Fatty Acids and Its Regulation on Intestinal Health of Poultry. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 736739. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.736739>

- 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. l.]: U. S. Patent and Trademark Office, 2020. [85] f., ilustr. [COBISS.SI-ID 47997955].
- Mohan V. 2015. The role of probiotics in the inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization and virulence attenuation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 34(8). <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2392-z>
- Mortada M., Cosby D. E., Shanmugasundaram R., Selvaraj R. K. 2020. In vivo and in vitro assessment of commercial probiotic and organic acid feed additives in broilers challenged with *Campylobacter coli*. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(2). <https://doi.org/10.1016/j.japr.2020.02.001>
- Neijat M., Habtewold J., Shirley R. B., Welsher A., Barton J., Thiery P., Kiarie E. 2019. *Bacillus subtilis* Strain DSM 29784 Modulates the Cecal Microbiome, Concentration of Short-Chain Fatty Acids, and Apparent Retention of Dietary Components in Shaver White Chickens during Grower, Developer, and Laying Phases. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(14). <https://doi.org/10.1128/AEM.00402-19>
- Nguyen T. N. D., Le H. N., Pham V. V., Eva P., Alberto F., Le T. H. 2021. Relationship between the ratio of villous height: crypt depth and gut bacteria counts as well production parameters in broiler chickens. *The Journal of Agriculture and Development*, 20(3). <https://doi.org/10.52997/jad.1.03.2021>
- Onrust L., Ducatelle R., Van Driessche K., De Maesschalck C., Vermeulen K., Haesebrouck F., Eeckhaut V., Van Immerseel F. 2015. Steering Endogenous Butyrate Production in the Intestinal Tract of Broilers as a Tool to Improve Gut Health. *Frontiers in Veterinary Science*, 2, 75. <https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00075>
- Park J.-H., Kim Y.-M., Kang D.-K., Kim I.-H. 2017. Effect of Dietary *Bacillus Subtilis* C14 and RX7 Strains on Growth Performance, Blood Parameter, and Intestinal Microbiota in Broiler Chickens Challenged with *Salmonella Gallinarum*. *The Journal of Poultry Science*, 54(3). <https://doi.org/10.2141/jpsa.0160078>
- Podnar E., Dendinovic K., Danevčič T., Lories B., Kovačec E., Steenackers H., Mandic-Mulec I. 2025. *Bacillus subtilis* ensures high spore quality in competition with *Salmonella Typhimurium* via the SigB-dependent pathway. *The ISME Journal*, wraf052. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf052>
- Podnar E., Erega A., Danevčič T., Kovačec E., Lories B., Steenackers H., Mandic-Mulec I. 2022. Nutrient Availability and Biofilm Polysaccharide Shape the Bacillaene-Dependent Antagonism of *Bacillus subtilis* against *Salmonella Typhimurium*. *Microbiology Spectrum*, 10(6). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01836-22>
- Sachdeva A., Tomar T., Malik T., Bains A., Karnwal A. 2025. Exploring probiotics as a sustainable alternative to antimicrobial growth promoters: Mechanisms and benefits in animal health. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1523678. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1523678>
- Saint-Martin V., Guillory V., Chollot M., Fleuret I., Kut E., Roesch F., Caballero I., Helloin E., Chambello, E., Ferguson B., Velge P., Kempf F., Trapp S., Guabiraba R. 2024. The gut microbiota and its metabolite butyrate shape metabolism and antiviral immunity along the gut-lung axis in the chicken. *Communications Biology*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06815-0>
- Šimunović K., Sahin O., Erega A., Štefanič P., Zhang Q., Mandic Mulec I., Smole Možina S., Klančnik A. 2022a. *Bacillus subtilis* PS-216 Spores Supplemented in Broiler Chicken Drinking Water Reduce *Campylobacter jejuni* Colonization and Increases Weight Gain. *Frontiers in Microbiology*, 13, 910616. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.910616>
- Šimunović K., Stefanic P., Klančnik A., Erega A., Mandic Mulec I., Smole Možina, S. S. 2022b. *Bacillus subtilis* PS-216 Antagonistic Activities against *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 Are Modulated by Temperature, Oxygen, and Growth Medium. *Microorganisms*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020289>
- Smernice za industrijo GFI#213: Nova zdravila za živali in nove kombinacije zdravil za živali, ki se dajejo v ali na zdravljeno krmo ali pitno vodo živali za proizvodnjo živil Ministrstva za zdravje in socialne zadeve ZDA, Uprave za hrano in zdravila, Centra za veterinarsko medicino. December 2013. <https://www.fda.gov/media/83488/>
- Stefanic P., Mandic-Mulec I. 2009. Social Interactions and Distribution of *Bacillus subtilis* Pherotypes at Microscale. *Journal of Bacteriology*, 191(6). <https://doi.org/10.1128/JB.01290-08>
- Stefanic P., Kraigher B., Lyons N. A., Kolter R., Mandic-Mulec I. 2015. Kin discrimination between sympatric *Bacillus subtilis* isolates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(45). <https://doi.org/10.1073/pnas.1512671112>
- Uredba (ES) št. 1831/2003 Evropskega parlamenta in Sveta o dodatkih za uporabo v prehrani živali. 22. September 2003. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/eur40306.pdf>

van Wageningen C. P. A., van Horne P. L. M., van Asseldonk M. A. P. M. 2020. Cost-effectiveness analysis of using probiotics, prebiotics, or synbiotics to control *Campylobacter* in broilers. *Poultry Science*, 99(8). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.003>

DELAMARIS – ZGODBA O TURISTIČNI PAŠTETI IN SOLATE

Eva HRVATIN¹, Alja KRNEL² in Monika MARIN³

Povzetek: Delamaris, d. o. o., je podjetje z več kot 145-letno tradicijo; od leta 1879 in je eden najstarejših razvojno naravnanih proizvajalcev ribjih konzerv v Evropi. Podjetje ponuja širok spekter ribjih izdelkov, vključno s tradicionalnimi ribami z zelenjavo, ribjimi paštetami in sodobnimi solatami, ki so pripravljene brez konzervansov, umetnih barvil in ojačevalcev okusov. To dokazuje njihovo zavezanost k zdravju, visoki kakovosti in odgovornemu ravnanju z okoljem. Delamarisova dolgoletna tradicija in odprtost za inovacije omogočata podjetju, da spoštuje preteklost, hkrati pa aktivno oblikuje prihodnost prehrane z lastnim razvojem zdravih in trajnostnih živil. Delamaris Turistična pašteta, ki je bila prvič razvita v začetku petdesetih let prejšnjega stoletja, ima v prehranskem spominu uporabnikov posebno mesto. Sestavljena je iz kuhane skuše, korenja, paradižnikovega koncentrata in drugih naravnih sestavin. Je priročen in hranljiv obrok, ki je postal nepogrešljiv del slovenskih potovalnih nahrbtnikov. V zadnjih letih je Delamaris razvil nove ribje solate, ki vključujejo kakovostne kose rib, kot so losos, tuna, orada in skuša, ter zelenjavne mešanice, stročnice in žita. Te solate so naravni vir beljakovin, zdravih maščob in prehranskih vlaknin in so zasnovane za ozaveščenega potrošnika. So hitra, okusna in hranilna rešitev za dinamičen življenjski slog.

Ključne besede: Delamaris, Turistična pašteta, ribje solate, ribe, konzerviranje

DELAMARIS - THE STORY OF THE TOURIST PÂTÉ AND SALADS

Abstract: Delamaris d.o.o. is a company with more than 145 years of tradition, dating back to 1879, and is one of the oldest development-oriented producers of canned fish in Europe. The company offers a wide range of fish products, including traditional fish with vegetables, fish pâtés and modern salads, all made without preservatives, artificial colorings, or flavor enhancers. This reflects their commitment to health, high quality, and responsible environmental practices. Delamaris's long-standing tradition and openness to innovation allow the company to respect the past while actively shaping the future of food by developing healthy and sustainable products. Delamaris Tourist Pâté, first developed in the early 1950s, holds a special place in the culinary memory. It is made from cooked mackerel, carrots, tomato concentrate, and other natural ingredients. It is a convenient and nutritious meal that has become an essential part of Slovenian travel backpacks. In recent years, Delamaris has developed new fish salads, which include high-quality fish cuts such as salmon, tuna, sea bream, and mackerel, as well as vegetable mixes, legumes, and grains. These salads are a natural source of protein, healthy fats, and dietary fiber, and are designed for the modern, health-conscious consumer. They are a quick, tasty, and nutritious solution for a dynamic lifestyle.

Keywords: Delamaris, Tourist Pâté, fish salads, fish, canning

¹ Tehnologinja v podjetju Delamaris, d. o. o.

² Vodja blagovne znamke v podjetju Delamaris, d. o. o.

³ Direktorica za razvoj, tehnologijo in proizvodnjo Delamaris, d. o. o.

1 UVOD

Ribe spadajo med najbolj hitro pokvarljivo živilo živalskega izvora, zato se jih mora ustrezno skladiščiti v čim krajšem možnem času po ulovu, saj se s takšnim načinom izognemo nezaželenim spremembam vonja in okusa in s tem padcu kakovosti živila, ki je večinoma posledica bakterijskega delovanja (Jenko in Bem, 2003). Če želimo ribe uporabiti tudi kasneje, smo prisiljeni na najustreznejši način podaljšati kakovost živila. Poleg hlajenja, zmrzovanja, razsoljevanja in sušenja je ena med ustrežnejšimi možnostmi tudi konzerviranje s temperaturo (sterilizacijo), s čimer se ukvarja podjetje Delamaris, d. o. o.

Konzervirani izdelki (konzerve) imajo dolg rok trajanja, poleg tega pa ne zahtevajo hladne verige med skladiščenjem in transportom. Z ustrezno toplotno obdelavo se uničijo škodljivi mikroorganizmi, pri tem pa se ohrani čim več hranilnih in fizikalnih lastnosti živila (Berry in Pflug, 2003). Začetki uporabe te metode segajo v leto 1810, ko je Nicholas Appert prvič opisal postopek konzerviranja v nepropustni posodi. Postopek konzerviranja je v osnovi preprost: pripravljeno živilo se napolni v pločevinko, ta se hermetično zapre, nato sledita toplotna obdelava in ohlajanje pred označevanjem, skladiščenjem in distribucijo. Glavni namen je podaljšanje obstojnosti z uničevanjem mikroorganizmov in inaktiviranjem encimov. Razlikujemo dva postopka: pasterizacijo – poteka pri temperaturah, nižjih od 100 °C, in sterilizacijo – poteka pri temperaturah, višjih od 100 °C (Jarvis, 1988; Bizjak in Bem, 2003).

2 ZGODOVINA DELAMARISA

Delamaris, d. o. o. (v nadaljevanju Delamaris), je ponudnik visokokakovostnih konzerviranih ribjih izdelkov iz naravnih sestavin. Izkušnje konzerviranja ribjih konzerv omogočajo, da tudi danes, po več kot 145-letni tradiciji, Delamaris še vedno ponuja povsem naravne izdelke.

Podjetje posluje s približno 90 zaposlenimi. Zavezanost h kakovosti proizvodnje ter skrbi za okolje in potrošnike potrjuje tudi z mednarodno uveljavljenim standardom za varno hrano, IFS food. Delamaris je s svojo prepoznavno blagovno znamko prisoten na več kot 28 trgih sveta in naredi povprečno 23 mio. konzerv na leto. Asortiment izdelkov je zelo širok, od filejev skuše do rib z zelenjavo, sardin, ribjih solat, narezkov, mesnih in ribjih paštet, inčunov.

Zgodovina Delamarisa sega v leto 1879, ko je francoski podjetnik Emile Louis Rouillet v Izoli ustanovil prvo tovarno za predelavo in konzerviranje rib na severnem Jadranu. Tovarna je začela delovati leta 1881, domačini pa so jo imenovali »tovarna Francozov«. V naslednjih letih so sledile še tri druge tovarne, kar je Izolo uveljavilo kot pomembno središče ribje predelovalne industrije. Do prve svetovne vojne so izdelki dosegli tudi mednarodne trge in cesarsko vojsko.

Med vojnami je industrija doživela razcvet, predvsem zaradi italijanske podpore in vlaganj. Pomemben poudarek je bil na kakovosti – izdelke so izvažali tudi v ZDA in Kanado. Leta 1938 sta Ampelea in Arrigoni organizirali lastni ribiški floti in razširili proizvodnjo. Druga svetovna vojna je razvoj prekinila. Po vojni je obrat prešel v družbeno lastnino, a je trpel zaradi politične negotovosti in pomanjkanja opreme. V petdesetih in šestdesetih letih so obrati Iris, Argo, Delamaris in koprski Ikra združili moči v Kombinat konzervne industrije Delamaris. Zaradi pomanjkanja domačih rib so se usmerili tudi v zelenjavne izdelke, jušne koncentrate in ribje paštete. V sedemdesetih letih je podjetje postalo del HP Ljubljana, pozneje pa se je združilo z Drogo Portorož. Sledilo je prestrukturiranje v Holding Delamaris, ki je zaslovel z ribjimi paštetami, kot je Turistična. Po osamosvojitvi Slovenije leta 1991 se je podjetje prilagodilo novim tržnim razmeram z večjo avtomatizacijo, optimizacijo proizvodnje in širjenjem na tuje trge. Leta 1992 je nastal poslovni sistem, ki je združeval več specializiranih podjetij s celotnim spektrom dejavnosti, od ribolova do pakiranja zamrznjenih rib. Leta 1997 je bilo lastninjenje v tej panogi zaključeno, kar je vodilo v nastanek štirih samostojnih podjetij: Delamaris, d. d., Delmar, d. o. o., Riba, d. o. o., in Frigomar, d. o. o. Avgusta 2008 se je proizvodni del izločil iz delniške družbe Delamaris, konzervna industrija, d. d., in začel samostojno delovati v okviru nove družbe Delamaris, konzervna industrija, d. o. o., krajše Delamaris, d. o. o. (Delamaris), kot ga poznamo danes. Ta preoblikovanja so predstavljala

pomembne korake v prehodu iz nekdanjega sistema v sodobno tržno usmerjeno podjetje (vir: <https://www.delamaris.si/tradicija/>).

Leta 2009 je Delamaris postal del skupine Pivka perutninarstvo, leta 2014 so proizvodnjo preselili v novo, sodobno tovarno na Kalu pri Pivki, kjer danes potekajo celoten razvoj, proizvodnja in nadzor nad kakovostjo (vir: <https://www.delamaris.si/tradicija/>).

Delamaris danes ni le eden najstarejših proizvajalcev ribjih konzerv v Evropi, temveč tudi sodoben inovator na področju prehrane in ribjih jedi. Njegova ponudba vključuje skušine solate z zelenjavo, ribje paštete in druge ribje izdelke, pripravljene po preizkušenih tradicionalnih recepturah, pa tudi sodobne izdelke z inovativnimi okusi in skrbno izbranimi sestavinami. Prav ti predstavljajo odgovor na vprašanje »Kaj bomo jedli jutri?«. Vsi izdelki so pripravljene brez dodanih konzervansov, umetnih barvil in ojačevalcev okusov, kar potrjuje zavezanost podjetja k zdravju, visoki kakovosti in odgovornemu ravnanju do okolja in družbe.

Delamaris s svojo dolgoletno tradicijo, odprtostjo za inovacije in zavestjo o pomenu razvoja zdravih živil dokazuje, da je mogoče spoštovati preteklost in hkrati aktivno sooblikovati prihodnost prehrane.

3 LEGENDARNA DELAMARIS TURISTIČNA PAŠTETA, KI NAVDUŠUJE ŽE VEČ KOT 50 LET

Delamaris Turistična pašteta ima v našem skupnem prehranskem spominu prav posebno mesto – ne zgolj kot izdelek, ampak kot del življenjskega sloga in kulturnega trenutka. Njeni začetki in razvoj segajo v zgodnja šestdeseta leta prejšnjega stoletja, ko je bila proizvodnja Turistične paštete zasnovana povsem preprosto, a skrbno – z jasnim poudarkom na kakovostnih sestavinah in naravnem okusu ter mislijo na prihodnost.

Že samo ime »Turistična pašteta« je nosilo obljubo, ki jo lahko preslikamo tudi v današnje čase – priročen, okusen in hranljiv obrok za na pot, za na izlet, za družinske počitnice. Bila je in ostaja sinonim za vsestransko uporaben skušin namaz z značilno rdečkasto barvo, z bogatim okusom, ki je bil od nekdaj skoraj nepogrešljiv del slovenskih potovalnih nahrbtnikov.

Danes, več desetletij kasneje, se vračamo k primarnim izhodiščem – z zavestjo, da je prav iz tradicije moč razmišljati in graditi v prihodnosti. Uporaba naravnih in skrbno izbranih sestavin ni zgolj odraz sodobnih prehranskih trendov, temveč ohranjanje vrednot, ki so jih cenili že ustvarjalci prve Delamaris Turistične paštete. Te vrednote želimo danes približati tudi mlajšim generacijam, ki bodo zgodbo o tej odlični in vsestranski paštetni nekoč z enakim ponosom predajale naprej. Turistična pašteta Delamaris je zasnovana tudi z mislijo na sodobnega potrošnika – zato je na voljo v različnih pakiranjih. Bogat okus značilno rdeče barve Turistične paštete smo dodatno začinili za vse ljubitelje pikantnih okusov in razvili tudi Delamaris Turistično pašteto Pikant v 95-gramskem pakiranju.

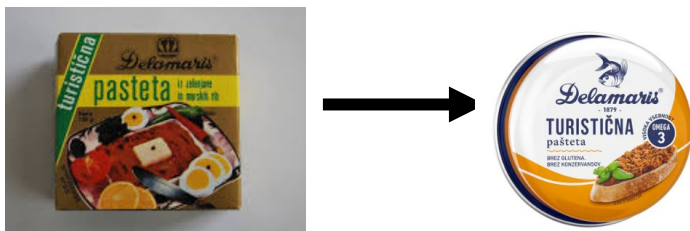
3.1 PRENOVA KLASIČNEGA VIDEZA TURISTIČNE PAŠTETE Z MISLIJO NA PRIHODNOST

Turistična pašteta je eden izmed najbolj priljubljenih in prepoznavnih izdelkov v portfelju podjetja Delamaris in že več kot pet desetletij zaseda posebno mesto v srcu potrošnikov ter je pomemben element njihovih nakupnih navad, ko izbirajo med kakovostnimi ribjimi namazi in paštetami. Ravno zaradi svojega statusa klasike se je skozi desetletja pojavila odgovornost, da ji s prenovo embalaže vdihnemo novo, bolj trajnostno in sodobno podobo – tako vizualno kot vsebinsko.

Ključne usmeritve prenove so bile od nastanka Turistične paštete do sedaj usmerjene v:

- ohranjanje obstoječe recepture – v smeri zagotavljanja avtentičnega in odličnega okusa, ki ga poznajo številne generacije;
- zagotavljanje najboljših surovin – predanost našega razvojnega in nabavnega oddelka se odraža v skrbni izbiri dobaviteljev in visokokakovostnih surovin, s katerimi ohranjamo prepoznaven okus Turistične paštete;

- c. trajnostno embalažo – Delamaris uporablja tehnologijo pakiranja ribjih izdelkov v aluminijasto embalažo, ki se lažje odpira in je lažja pri transportu ter ima visoko učinkovitost recikliranja; aluminijasta doza je 100-% reciklabilna, z zmanjšano porabo materiala in brez plastičnih dodatkov.
- d. prenovi podobe embalaže, ki s sodobno, a prepoznavno vizualno identiteto blagovne znamke nagovarja mlajšega potrošnika, hkrati pa ohranja kontinuiteto in vez med obstoječimi uporabniki.

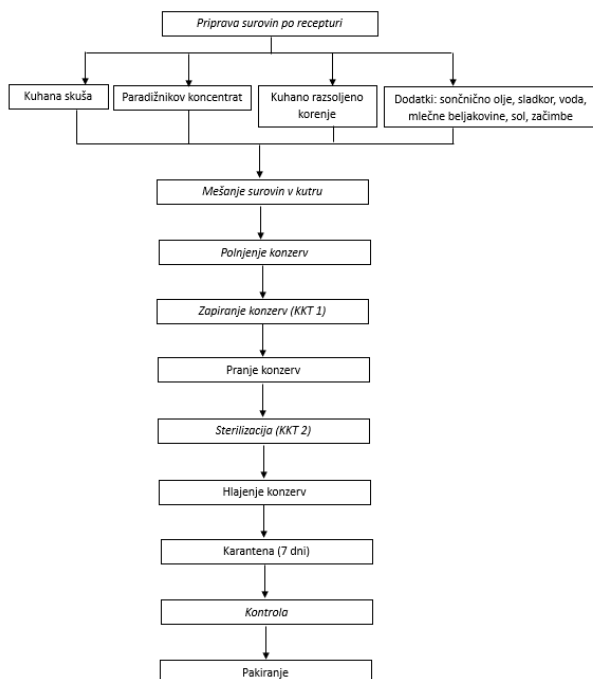


Slika 1: Prenova videza Turistične paštete (Vir: lasten 2025)

3.2 PROCES IZDELAVE RIBJIH KONZERV – TURISTIČNE PAŠTETE

Danes je Turistična pašteta sestavljena iz zelenjave in skuše (*Scomber scombrus*). V recepturi 40 % paštete predstavlja kuhana skuša, 26 % pa naravno fermentirano korenje. Pašteta vsebuje še paradižnikov koncentrat, sončnično olje, sladkor, vodo, mlečne beljakovine, jodirano sol in začimbe.

Proizvodni proces (Slika 2) Turistične paštete obsega zaporedne faze, ki segajo od prevzema surovin do odpreme končnega izdelka. Za vsako fazo je pripravljeno pisno navodilo, ki natančno določa, kako naj se posamezni postopek izvede. Ti ključni koraki vključujejo: dobavo in skladiščenje surovin, tajanje ribe, pripravo, toplotno obdelavo, čiščenje, polnjenje konzerv, zapiranje konzerv, pranje konzerv, polnjenje košar, sterilizacijo, hlajenje, označevanje konzerv in pakiranje.



Slika 2: Tehnološki postopek Turistične paštete (Vir: lasten 2025)

Osnovni materiali, ki se uporabljajo pri izdelavi posameznega izdelka, v našem primeru Turistične paštete, so: pokrovi in doze, riba, paradižnikov koncentrat, olje, voda, mlečne beljakovine in začimbe.

Za ribje paštete se dandanes uporabljajo okrogle aluminijaste konzerve s pokrovom »easy peel«, ki je veliko lažji za odpiranje od odpiranja »easy open«. Doza za paštete, v preteklosti iz pločevine, danes iz aluminija, je enodelna, vlečena, kar pomeni, da sta dno in obod izdelana iz enega samega kosa aluminija. Dobijo jo s stiskanjem in rezanjem aluminijastih plošč s posebnim orodjem. Doza je na notranji strani prevlečena z lakom, ki varuje pred korozijo in migracijami materiala v izdelek. Doza je lahko litografirana ali enobarvna, brez potiska. V preteklosti so se pločevinke iz pločevine na dvojnem zgibu dna in oboda spajkale, kasneje pa je bilo v ta spoj uvedeno gumijasto tesnilo iz umetne tekoče gume. Debelina nanosa tekoče gume je pomembna, da pokrov in doza tesnita (Bergant, 1965; Potočnik, 2004).

V nadaljevanju je opisan tehnološki postopek izdelave Turistične paštete.

3.2.1 Skuša (*Scomber scombrus*)

Delamaris je specialist za skušo. V izdelkih s skušo uporablja atlantsko skušo (*Scomber scombrus*). Atlantska skuša se lovi v vodah severnega Atlantika, od Sredozemlja do Norveške na vzhodu in od Severne Karoline do Nove Fundlandije na zahodu. Spomladi in poleti se skuša nahaja v obalnih vodah. Od pozne jeseni in pozimi se nahaja globlje v toplejših vodah na robu kontinentalne police (DFO, 2008).

Skuša (Slika 3) je hitro plavajoča pelagična riba, ki prebiva v jatah in se v svoji življenjski dobi seli na velike razdalje. Skuša se zgodaj poleti seli v islandske vode, da bi poiskala hrano in obnovila zalogo energije. Takrat se vsebnost lipidov v mišicah poveča, kar povzroči velike sezonske in individualne razlike v sestavi maščobnih kislin in kakovosti skuše (Romotowska in sod., 2016).



Slika 3: Atlantska skuša (*Scomber scombrus*) (Vir: <https://www.fisheries.noaa.gov/species/atlantic-mackerel>, 25. 4. 2025)

Atlantska skuša ima na hrbtu bleščečo modro-zeleno barvo in srebrno-bel trebuh. Na zgornji polovici telesa ima valovite črtaste proge, njeno telo pa se proti obema koncema zožuje. Atlantska skuša raste hitro in lahko doseže dolžino do 42 cm in maso do 1 kg. Živi lahko do 20 let. Skuša se intenzivno prehranjuje s členonožci, je tudi lignje in nekatere vrste rib, sama pa je tudi hrana za druge večje ribe. Atlantska skuša živi na obeh straneh severnega Atlantika, tudi v Baltskem morju. Je pelagična riba in plava v jatah blizu morske gladine ter se seli med drstitvenimi in poletnimi območji (NOAA, b.l.).

Atlantska skuša za prehrano ljudi postaja vse pomembnejša zaradi svojih koristnih lipidnih in fizikalno-kemijskih lastnosti. Naraščajoče povpraševanje po trajnostnih morskih sadežih in ribjih izdelkih ter vse večjo naklonjenost potrošnikov zdravim in dostopnim ribjim jedem, ki ustrezajo sodobnemu življenjskemu slogu, se lahko delno zadovolji z večjo uporabo pelagičnih rib za prehrano ljudi. Ta vsestranska surovina se lahko predela v širok nabor izdelkov, ki so bogati z visoko nenasičenimi maščobnimi kislinami, maščobotopnimi vitamini ter bistvenimi minerali in aminokislinami (Abraha in sod., 2018; Stolyhwo in sod., 2006). Skuša ima bogat in izrazit okus predvsem zaradi svoje visoke vsebnosti maščobe. Tekstura je mehka in sočna, meso kuhane skuše pa je bele do bež barve (NOAA, b.l.).

Intenzivno hranjenje atlantske skuše v islandskih vodah po drstitvi in selitvi povzroči povečanje vsebnosti lipidov s približno 10–15 % v juniju na 25–30 % v avgustu in septembru, kar lahko vpliva na stabilnost in primernost za

predelavo v prehranske namene (Romotowska in sod., 2016). Kratka ribolovna sezona (junij–september) zahteva optimizacijo pogojev za zamrzovanje in shranjevanje, da bi izboljšali razpoložljivost izdelkov. Za izdelavo Turistične paštete se uporablja kuhana riba. Namen kuhanja je lažje čiščenje ribe. S kuhanjem se odstrani tudi odvečna tekočina in koagulirane beljakovine, ki bi lahko vplivale na videz izdelka. V Delamarisu se za kuhanje skuše uporablja kontinuirni parni kuhalnik.

3.2.2 Korenje

Korenje, ki se uporablja za Turistično pašteto, je kockano in fermentirano.

Mlečnokislinska fermentacija je proces konzerviranja, ki ga izvajajo mlečnokislinske bakterije. Med fermentacijo mlečnokislinske bakterije poleg organskih kislin (mlečna in očetna) proizvajajo tudi druge snovi, npr. diacetil, etanol, vodikov peroksid, reuterin, acetaldehid, acetoin, ogljikov dioksid in bakteriocine. Te naravne spojine delujejo kot biokonzervansi, ki zavirajo rast patogenih, nepatogenih in pokvarljivih mikroorganizmov, kar povečuje varnost fermentirane hrane in s tem podaljšuje njen rok trajanja. Poleg prisotnosti biološko aktivnih snovi, ki nastajajo med fermentacijo, varnost fermentirane hrane nedvomno zagotavlja tudi znižana vrednost pH, ki spodbuja rast fermentacijskih bakterij v območju med 3,5 in 4,5.

Čeprav je fermentirana zelenjava bogata z vitaminom C in drugimi mikroelementi, vitamini, aminokislinami in biogenimi amini, se med izluževanjem in kuhanjem (kar je pri tehnološkem postopku Turistične paštete nujno) lahko toplotno labilne snovi izgubijo. Poleg tega pa fermentacija zagotavlja edinstvene okuse in arome hrane ter izboljša teksturo in videz hrane. Korenček namreč lahko s fermentacijo ohrani svojo čvrstost, kar v Turistični pašteti sicer nima vloge, jo pa ima pri proizvodnji predjedi, kjer ga lahko občutimo kot čvrstejši tudi po sterilizaciji. Produkti fermentacije izboljšujejo hranilno vrednost živil in nadzorujejo nekatere procese v organizmu, na primer sintezo prehransko pomembnih spojin, ter povečujejo biološko razpoložljivost hranil v fermentiranih surovinah. Poleg tega sintetizirajo celične encime in druge bioaktivne sestavine, ki stabilizirajo okolje v prebavnem traktu in spodbujajo prebavne procese (Kiczorowski in sod., 2022).

V magistrski nalogi Hrvatin E. (2022) lahko opazimo rezultate analize Turistične paštete na biogene amine in aminokislinske. Prišla je do zaključka, da vsebnost fermentiranega korenja v izdelku pripomore k višji vsebnosti gama amino butanojske kisline (GABA), ki velja za glavnega zaviralnega živčnega prenašalca. GABA je najpogostejši produkt mlečnokislinske fermentacije in jo najdemo v fermentiranih živilskih izdelkih, zato jo imajo lahko vsi izdelki, ki vsebujejo fermentirano zelenjavo. Tako tudi Delamarisova pašteta vsebuje visoko vsebnost GABA. Kljub temu da je korenje kuhano, kar lahko pomeni izluževanje GABA v vodo, ima še vedno višjo koncentracijo GABA kot na primer fileji v olju. Prav tako lahko fermentirano korenje v Turistični pašteti prispeva k višji vsebnosti nekaterih aminokislin v primerjavi s fileji v olju.

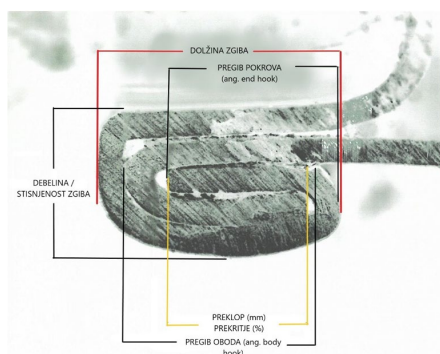
3.2.3 Priprava po recepturi in mešanje mase

Vse pripravljene sestavine se najprej natehta po recepturi. Na podlagi določenega tehnološkega postopka in navodil za delo se sestavine po dogovorjenem zaporedju strese v posodo kutra. Kuter je stroj za sekljanje in homogeniziranje mesa oziroma ribe. Hkrati s sekljanjem poteka tudi mešanje mase. Kuter je zgrajen iz elektromotorja, skleda, nožev. Hitrost nožev se lahko spreminja, kar vpliva na hitrost mešanja in na teksturo mase. Nato se vklopi kuter, nastavi hitrost in čas mešanja po navodilih. Homogena masa se po končanem postopku kutiranja prestavi v zalogovnik, iz katerega se masa po ceveh transportira do dozirnega stroja.

3.2.4 Polnjenje in zapiranje konzerv

Masa se polni v okrogle doze na dozirki za paštete. S pomočjo dozirke lahko enostavno doziramo želeno količino, ki je v primeru Turistične paštete najmanj 95 g. Zaželeno je, da je pokrov konzerve v rahlo konkavnem položaju, zato je med pokrovom in zgornjo plastjo mase treba zagotoviti dovolj praznega prostora, ki je namenjen odstranjevanju zraka in plinov znotraj napolnjenih pločevink (Bergant, 1965). Prekomerno polnjenje in zapiranje pločevink z ničelnim vakuumom ali brez pare lahko povzroči navidezno bombažo. Po polnjenju sledi zapiranje z

dvojnem zgibom. Dvojni zgib predstavlja hermetično mehansko zvezo med pokrovom ali dnom in obodom pločevinke. Dvojni zgib sestavlja pet plasti aluminija in se izvaja v dveh stopnjah. Prva faza preplete rob konzerve s pokrovom, druga faza pa stisne petslojni, ohlapno prepleten zgib v hermetično zaprt zgib. Prav popolno zapiranje konzerv, ki mora predstavljati hermetičnost, je kritična kontrolna točka. Zato je treba imeti kontrolo zapiranja, pri kateri morajo redno potekati meritve parametrov dvojnega zgiba. Prekritje v odstotkih je najpomembnejši parameter za hermetičnost konzerv (Bergant, 1965; Bratt, 2013). Po polnjenju in zapiranju konzerv sledi kontrola mase v konzervi.



Slika 4: Dvojni zgib z označenimi parametri (slika narejena z aparatom CMC-KUHNKE VSI-5000MH s programom Visionary QC 9.5.38 SPC, 27. 5. 2022), vir: lasten.

3.2.5 Polnjenje in zapiranje konzerv

Hermetično zaprte doze gredo po tehtanju in kontroli skozi prali stroj, ki opere vse nečistoče. To je pomembno tudi zaradi označevanja. Zaradi zagotavljanja sledljivosti morajo biti konzerve ustrezno označene. To se izvaja s pomočjo brizgalnih (angl. inkjet) naprav. Način označevanja je lahko pri vsakem proizvajalcu drugačen, cilj pa isti – sledljivost izdelka. Običajno se na izdelek natisne datum proizvodnje, LOT in datum roka uporabnosti izdelka s termolabilnim črnilom, ki spremeni barvo med sterilizacijo. Več informacij pomeni boljšo sledljivost izdelka (Bratt, 2013).

3.2.6 Sterilizacija

Sterilizacija je toplotni proces, pri katerem je treba zagotoviti, da se temperatura v konzervah hitro dvigne na več kot 100 °C, pri hlajenju pa, da se konzerve čim hitreje ohladijo pod 20 °C. Sterilizacija se izvaja v avtoklavih in mora potekati dovolj časa, pri odgovarjajočih temperaturah in ob kontroli F-vrednosti. F-vrednost je skupek vseh letalnih vplivov posameznih temperatur, ki delujejo v času nekega režima segrevanja na bakterijsko populacijo. Za F-vrednost je pomembno, da jo merimo v sredini konzerve, kjer se segreva najbolj počasi. Poznati je torej treba količino toplote, ki jo je treba uporabiti med postopkom sterilizacije, da se zagotovi zahtevani pogoj komercialne sterilnosti (Bizjak in Bem, 2003).

Poleg zapiranja je sterilizacija druga kritična kontrolna točka.

Napolnjene paštete so zložene z vrhom navzdol v perforirane košare, posamezne plasti pa so ločene s perforiranimi pladnji. Košare se nato prestavijo v avtoklav na sterilizacijo. Ko temperatura in tlak v avtoklavu dosežeta željeno vrednost, na tej vrednosti ostane predpisan čas s čim manjšim nihanjem. Po končani sterilizaciji se začne postopno ohlajanje z dodajanjem hladne vode, sledi faza hitrega ohlajanja, ki je prav tako pomembna, saj dokler konzerve niso popolnoma hladne, tudi sterilne še niso.

3.2.7 Termostatiranje in pakiranje

Po sterilizaciji se reprezentativnemu deležu steriliziranih konzerv odredi inkubacijsko testiranje, ki poteka pri temperaturi 37 °C 10 dni in pri temperaturi 55 °C za odkrivanje termofilnih mikroorganizmov. S termostatiranjem

lahko zaznamo napake v sterilizaciji. Po pregledu vse dokumentacije, ki je nastala pri proizvodnji konzerv, sledi odobritev s strani službe za kakovost, le-ta podpiše obrazec, da je živilo varno in kakovostno, ter ga sprostí za pakiranje in promet.

3.3 TURISTIČNA PAŠTETA SKOZI LETA

V starejših virih zasledimo, da se je Turistična pašteta začela proizvajati v petdesetih letih prejšnjega stoletja, in sicer v obratu IRIS. Sprva je nastajala kot stranski proizvod pri predelavi tune – iz ostankov, ki so ostali po čiščenju rib. Po recepturah iz obdobja med letoma 1973 in 1992 je Turistična pašteta poleg danes znanih sestavin vsebovala tudi belo vino, ponekod vegetabilni ekstrakt oziroma glutaminat in mlete rožičeve koščice. Takrat so jo pakirali v 100- in 80-gramske konzerve. Zanimivo je tudi, da so v določenem obdobju izdelovali Turistično pašteto iz posameznih vrst rib, denimo iz šurov. Vse to kaže, da se je receptura sčasoma razvijala in spreminjala.

V sodobni različici glutaminata ni več, kar je v skladu z zavezo podjetja Delamaris, da pri proizvodnji uporablja čim bolj naravne sestavine. Danes kot vezivno sredstvo uporabljajo mlečne beljakovine, ki pripomorejo k boljši povezavi sestavin in rahlo izboljšajo mazavost paštete.

Primerjava starejših receptur razkriva tudi spremembe v recepturi za vodo in olje, kar je povezano z drugačnim postopkom predelave rib. V preteklosti (ponekod tudi danes) so skušo obdelovali z lugom – to je vključevalo potapljanje košar s surovimi ribami v alkalno raztopino, nato spiranje z vodo, namakanje v kislino za nevtralizacijo baze ter končno ponovno spiranje in kuhanje. Ta postopek je omogočil kemijsko odstranjevanje kože, saj je močna baza povzročila saponifikacijo maščob in delno raztapljanje kožnega sloja. Po takšni obdelavi je bilo treba ribe temeljito izprati, da so odstranili vse ostanke kemičnih snovi. RIBE, obdelane na ta način, so bile po kuhanju bolj suhe kot danes, ko se uporabljajo blažji postopki predelave (Hanson, 1974). Danes skušo skuhamo, jo ročno očistimo in uporabimo v recepturi. V preglednici 1 je podana hranilna vrednost Turistične paštete.

Preglednica 1: Prehranska vrednost Turistične paštete

Povprečna hranilna vrednost na	100 g izdelka
Energijska vrednost	836 KJ/201 kcal
Maščoba	14,0 g
Od tega nasičene maščobne kisline	2,8 g
Ogljikovi hidrati	7,1 g
Od tega sladkorji	7,1 g
Prehranske vlaknine	1,9 g
Beljakovine	10,7 g
Sol	0,9 g
Maščobne kisline omega-3	1,9 g

Vsaka sestavina ima svojo vlogo – ne le v zasledovanju edinstvenega okusa, temveč tudi v teksturi in prehranski vrednosti paštete, ki je tudi dandanes bogata z maščobnimi kislinami omega-3 in beljakovinami. Receptura je bila sicer preprosta, a zasnovana z visoko mero premišljenosti – s spoštovanjem do osnovnih sestavin, njihovega izvora in pomena, ki ga imajo za prehransko kakovost izdelka.

4 RAZVOJ KONCEPTA NOVEGA ASORTIMENTA: DELAMARIS RIBJE SOLATE

V podjetju Delamaris smo se – v skladu s tržnimi trendi in spreminjajočimi se prehranskimi navadami – znotraj prodajno-marketingškega oddelka v tesnem sodelovanju z razvojnimi timom osredotočili na oblikovanje novega koncepta Delamaris ribjih solat. Gre za sodobne, polnovredne in visokokakovostne obroke, zasnovane za vse bolj ozaveščenega potrošnika, ki v hitrem vsakdanjem tempu išče preproste, a hranilno bogate prehranske rešitve.

Nove ribje solate Delamaris so rezultat domačega znanja in proizvodnje. Vsebujejo izbrane kose kakovostnih rib – lososa, orade, tune in skuše, ki jih dopolnjujejo zelenjavne mešanice, stročnice in žita. Vsaka kombinacija je sestavljena z namenom, da bi bil obrok okusen, hranilen in uravnotežen. Solate so naravni vir beljakovin in zdravih

maščobnih kislin, ne vsebujejo konzervansov ali drugih aditivov. Zaradi visokih vsebnosti zelenjave in stročnic so nekatere ribje solate tudi vir prehranske vlaknine, ki so pomembne pri presnovi in dobrem počutju.

Posebno mesto zasedajo naslednje različice ribjih solat v sedmih okusih: Losos Vital, Tuna Mexicana, Tuna Active, Tuna Garden, Orada Mediteran, Skuša Balance in najnovejša pridobitev – Losos Mediteran.

Delamaris je kot prvi na trgu predstavil ribje solate, ki vključujejo lososa, orado in skušo, ter tako znova potrdil svojo vlogo inovatorja in vodilnega strokovnjaka na področju ribjih konzerv v Sloveniji in širši regiji.

Naše ribje solate so prejele pomembna priznanja za svojo kakovost in inovativnost – leta 2022 so bile s strani Inštituta za nutricionistiko razglašene za najbolj inovativno živilo leta, leto kasneje, leta 2023, pa so v kategoriji konzerviranih živil prejele naziv Inovacija desetletja. Pri izboru so upoštevali tako hranilno sestavo kot tudi druge vidike inovativnosti: pester izbor vrste rib, ki jih med konzerviranimi izdelki na trgu ni mogoče dobiti v ponudbi. Vsebnost lososa, orade, skuše in tune je višja od podobnih izdelkov na trgu. Losos in orada izvirata iz trajnostnega ribogojstva oz. ribolova in se zato izdelka ponašata s certifikatoma MSC in ASC.

Razvoj posameznih okusov je potekal postopno, pri čemer smo temeljito sledili prehranskim smernicam in trendom zdrave prehrane. Ustvarili smo številne kombinacije rib, zelenjave, žit in stročnic, s ciljem oblikovati polnovreden, zdrav in pripravljen obrok, primeren za različne dele dneva.

Pri razvoju izdelkov ostajamo zvesti naši osnovni zavezi – ponuditi potrošnikom naravne izdelke brez aditivov in konzervansov. Ob tem pa s ponosom prispevamo tudi k izboljšanju prehranskih navad Slovencev, ki pogosto zaužijejo premalo rib in zelenjave – zato so naši izdelki korak v pravo smer.

4.1 MARKETINŠKA PODPORA

Leto 2022 je za blagovno znamko Delamaris predstavljalo pomemben prelomni trenutek z lansiranjem nove generacije ribjih solat. Zavedali smo se, da inovativni izdelki zahtevajo tudi strateško zasnovano in ciljno usmerjeno komunikacijsko podporo, ki bo nagovorila prave potrošnike na pravi način.

Ob lansiranju smo identificirali ključne ciljne skupine – od aktivnih posameznikov, mladih družin, zaposlenih s hitrim tempom življenja, do ljubiteljev zdrave prehrane in narave. Za vsako skupino smo razvili prilagojen komunikacijski pristop, s katerim smo želeli poudariti ključne prednosti ribjih solat: hitro pripravljen obrok, visoka hranilna vrednost, naravne sestavine in vsestranskost uporabe.

Eden izmed osrednjih komunikacijskih stebrov ob lansiranju novih ribjih solat je bila kampanja »Ribe za v hribe«, s katero smo želeli praktičnost ribjih solat Delamaris predstaviti skozi prizmo aktivnega življenjskega sloga. Kampanja je nagovarjala vse, ki svoj prosti čas radi preživljajo v naravi – še posebej planince in pohodnike.

Ribje solate smo predstavili kot odlično malico za na pot, idealno takrat, ko nam v vsakdanu zmanjka časa za kakovosten obrok, si želimo hranilen in lahek obrok med delovnikom ali po športni aktivnosti in ko se odpravljamo v hribe, kjer ni planinskih koč in iščemo priročno rešitev za malico na vrhu hriba.

Kampanja je povezovala uživanje hrane z gibanjem v naravi – ribje solate kot naravni vir beljakovin in zdravih maščob omega-3 so se izkazale kot popoln obrok za na pot, za obnovitev moči ter za varen in energičen korak na vrh hriba in za nazaj v dolino.

Sporočilo kampanje smo okrepili s sodelovanjem vplivnežev in Planinske zveze Slovenije, kar je prispevalo k avtentičnosti in uspešnosti akcije. S tem smo uspeli ustvariti iskreno in relevantno izkušnjo, ki ni temeljila zgolj na oglasnih sporočilih, temveč na doživljanju izdelka v realnem kontekstu.

Glede na odlične odzive potrošnikov in uspešnost kampanje si v prihodnje želimo ribje solate še bolj jasno pozicionirati kot nepogrešljiv del prehrane ob različnih aktivnostih. Naš cilj je, da ribje solate postanejo naravna izbira za vse, ki iščejo okusno, zdravo in praktično rešitev tudi izven doma.

4.2 RIBJE SOLATE DELAMARIS – ODGOVOR NA VPRAŠANJE: KAJ BOMO JEDLI JUTRI?

V času, ko se prehranske navade spreminjajo in življenjski ritem postaja vse hitrejši, je vprašanje »Kaj bomo jedli jutri?« bolj aktualno kot kadarkoli prej. Ljudje si želimo hrane, ki je hkrati okusna, uravnotežena in predvsem prilagojena našemu načinu življenja. Ribje solate Delamaris se tukaj naravno postavljajo kot odgovor prehranskim navadam v prihodnosti.

Na podlagi odličnih odzivov in uspešnih kampanj želimo v prihodnje še bolj utrditi njihov položaj kot pametno izbiro za sodobnega potrošnika – tistega, ki je aktiven, mobilen, ozaveščen in ceni kakovost. Ribje solate vidimo kot nepogrešljiv del prehrane ob različnih dejavnostih – naj gre za pohod, družinski izlet, potovanje ali hitro malico doma, v službi ali na poti.

Tudi v prihodnosti bomo razvijali nove okuse in recepte, ki sledijo smernicam uravnotežene in trajnostne prehrane, okrepili prepoznavnost ribjih solat kot »ready-to-eat« rešitev za vsak dan, nadgradili zgodbo z jasnim fokusom na kakovostne sestavine, lokalno predelavo ter s spodbujanjem vrednot, ki zadevajo trajnost, in vrednot, ki so del identitete blagovne znamke Delamaris.

Naše izdelke želimo približati novim generacijam, ki razumejo, da prehrana ni zgolj gorivo, temveč pomemben del osebne identitete in vsakodnevna izbira, ki vpliva na naše počutje, zdravje in navsezadnje tudi odnos do okolja.

5 ZAKLJUČEK

V več kot 145-letni zgodovini se je Delamaris iz majhne lokalne tovarne razvil v sodobno podjetje z globalnim dosegom, ki uspešno združuje tradicijo, kakovost in inovativnost. Njegov razvoj odraža širše družbene, politične in gospodarske spremembe, a skozi vse preobrazbe je podjetje ohranilo zvestobo osnovnim vrednotam – naravnim sestavinam, visoki kakovosti in odgovornemu odnosu do okolja. Danes Delamaris ne ponuja le ribjih izdelkov, temveč tudi zgodbo o vztrajnosti, prilagodljivosti in predanosti, zgodbo, ki jo zaznamujejo tako pretekle generacije kot tudi sodobni izzivi prehranske industrije.

Turistična pašteta je s svojo estetsko prenovo postala zrcalo sodobnega potrošnika, ki išče ravnotežje med kakovostjo, zdravjem in trajnostjo. Z ohranjanjem recepture, vlaganjem v visokokakovostne surovine in uporabo okolju prijazne embalaže je Delamaris pokazal, da lahko tudi ikoničen izdelek uspešno stopa v korak s časom. Turistična pašteta tako ostaja več kot le obrok – postaja del kulturne dediščine in obenem obljuba za odgovorno prehransko prihodnost. Turistična pašteta je torej sodoben ribji izdelek, ki s svojo sestavo in proizvodnim postopkom zadovoljuje potrebe potrošnikov po zdravih, okusnih in enostavno uporabnih živilih. Kombinacija zelenjave in atlantske skuše, ki je bogata z nenasičenimi maščobnimi kislinami, vitamini in minerali, pašteti daje visoko prehransko vrednost in jo naredi edinstveno med ribjimi namazi na trgu. S tehnološko dovršenim postopkom priprave in sterilizacije se zagotavlja varnost, kakovost in dolg rok trajanja izdelka brez potrebe po dodatnih konzervansih. Fermentirano korenje pašteti ne daje le okusa, ampak tudi funkcionalno vrednost.

Delamaris s svojim znanjem in izkušnjami pri predelavi skuše dokazuje, da je mogoče tradicionalne ribje izdelke uspešno vključiti v sodobne prehranske trende. Turistična pašteta tako ostaja priljubljen in kakovosten izdelek na slovenskem trgu, s potencialom za širšo uporabo tudi v mednarodnem prostoru.

Skupaj z razvojem novih izdelkov, kot so ribje solate Delamaris, podjetje dokazuje, da zna prepoznavati in ustvarjati trende. V današnjem hitrem tempu življenja si mnogi ljudje vse težje najdejo čas za pripravo uravnoteženih obrokov. Zaradi tega se povečuje vpliv hitre prehrane, ki pa je pogosto hranilno revna. Solate

predstavljajo odlično alternativo tovrstni hrani. Poleg tega so dober način, da v prehrano vključimo beljakovine, dobre maščobe in več zelenjave, ki je marsikomu sicer primanjkuje.

6 VIRI

- Abraha B., Admassu H., Mahmud A., Tsighe N., Shui X.W., Fang Y. 2018. Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. *MOJ Food Process Technol*, 6(4): 376–382. doi: 10.15406/mojfpt.2018.06.00191.
- Bergant S. 1965. Osnove izdelave konzervnih doz. Ljubljana, Tovarna »SATURNUS«: 318 str.
- Berry M.R., Pflug I.J. 2003. Canning: Principles. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (ur.). Amsterdam, Academic Press: 816–824.
- Bizjak K., Bem Z. 2003. Podaljšanje obstojnosti živil. V: *Mikrobiologija živil živalskega izvora*. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 255–282.
- Bratt L. 2013. GLOBEFISH consultant. Technical guide to fish canning globefish. Research Programme, Vol. 111. Rome, FAO: 69 str.
- Delamaris. Dostopno na: <https://www.delamaris.si/tradicija/> (april 2025)
- DFO. 2008. Assessment of the Atlantic Mackerel for the Northwest Atlantic (Subareas 3 and 4) in 2007. DFO Canadian Science Advisory Secretariat Science Advisory Report. 2008/041.
- Hanson R. E. 1974. Process for preserving fish and the product produced thereby. Patent US 3,806,616 A.
- Hrvatina E. 2022. Vsebnost γ -amino butanojske kisline in aminov v procesu izdelave ribjih konzerv. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.
- Jarvis N.D. 1988. Curing and canning of fishery products: A history. *Marine Fisheries Review*, 50, 4: 180–185
- Jenko R., Bem Z. 2003. Ribe, raki in školjke. V: *Mikrobiologija živil živalskega izvora*. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 473–491
- Kiczorowski P., Kiczorowska B., Samolińska W., Szmigielski M., Winiarska-Mieczan A. 2022. Effect of fermentation of chosen vegetables on the nutrient, mineral, and biocomponent profile in human and animal nutrition. *Scientific Reports*, 12(1): 13422. doi: 10.1038/s41598-022-17782-z.
- National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Atlantic mackerel [Seafood]. National Marine Fisheries Service. <https://www.fisheries.noaa.gov/species/atlantic-mackerel/seafood> (16. 4. 2025)
- Potočnik E. 2004. Saturnus: kovinska embalaža. Ljubljana, Saturnus Embalaža: 143 str.
- Romotowska, P. E., Gudjónsdóttir, M., Kristinsdóttir, T. B., Karlsdóttir, M. G., Arason, S., Jónsson, Á., Kristinsson, H. G. 2016. Effect of brining and frozen storage on physicochemical properties of well-fed Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) intended for hot smoking and canning. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.055>
- Stołyhwo A., Kołodziejka I., Sikorski Z. E. 2006. Long chain polyunsaturated fatty acids in smoked Atlantic mackerel and Baltic sprats. *Food Chemistry*, 94(4): 589–595. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.050>

“TRAJNOSTNA ČOKOLADA”

Monika KOČAR¹

Povzetek: Pridelava kakava, osrednje sestavine čokolade, se sooča z različnimi globalnimi izzivi, kot so podnebne spremembe, bolezni rastlin, nihanja cen in socialne neenakosti, hkrati pa se povpraševanje po čokoladi povečuje, predvsem v hitro rastočih gospodarskih regijah. Vse to vpliva na svetovno proizvodnjo kakava, zaradi česar postaja ta industrija vedno bolj nestabilna in nujno potrebuje inovacije za prihodnost. Industrija čokolade išče trajnostne alternative, kot so rožič, grozdne tropine in ječmenov slad, ki bi lahko nadomestile kakav, ponudile nižji ogljični odtis in izboljšale dostopnost virov. Te alternative obljublajo ekonomske in okoljske prednosti ter prispevajo k večji trajnosti proizvodnje čokolade, medtem ko ohranjajo hranilno vrednost in kakovost končnih izdelkov.

Ključne besede: trajnostna čokolada, nadomestki kakava, rožič, grozdne tropine

“SUSTAINABLE CHOCOLATE”

Abstract: Cocoa production, the central ingredient of chocolate, faces various global challenges such as climate change, plant diseases, price fluctuations, and social inequalities, while demand for chocolate is increasing, especially in rapidly growing economic regions. All of these factors impact global cocoa production, making the industry increasingly unstable and urgently in need of innovation for the future. The chocolate industry is looking for sustainable alternatives, such as carob, grape pomace, and barley malt, that could replace cocoa, offer a lower carbon footprint, and improve resource accessibility. These alternatives promise economic and environmental benefits while contributing to the greater sustainability of chocolate production, all while maintaining the nutritional value and quality of the final products.

Keywords: sustainable chocolate, cocoa substitutes, carob, grape pomace

¹ mag. inž. živil., INCOM d.o.o., Tovarniška cesta 6a, 5270 Ajdovščina, e-pošta: monika.kocar@leone.si

1 UVOD

Industrija čokolade se sooča z naraščajočimi izzivi, ki jih prinašajo globalni okoljski, socialni in ekonomski dejavniki. Pridelava kakava, osrednje sestavine čokolade, je podvržena številnim negativnim vplivom, kot so podnebne spremembe, bolezni rastlin, socialne neenakosti ter nihanja v cenah, ki ogrožajo stabilnost te industrije. Hkrati pa povpraševanje po čokoladi narašča, zlasti v hitro rastočih gospodarskih regijah, kar še dodatno povečuje pritisk na proizvodnjo kakava. Zaradi teh dejavnikov postaja pridelava kakava vse bolj negotova, kar ogroža dolgoročno trajnost čokoladne industrije.

V luči teh izzivov se industrija čokolade že usmerja k iskanju trajnostnih alternativ za kakav, ki bi omogočile zmanjšanje okoljskih vplivov, izboljšanje dostopnosti virov in povečanje odpornosti industrije na prihodnje izzive. Alternativne sestavine, kot so rožič, grozdne tropine in ječmenov slad, obetajo potencial za nadomestitev tradicionalnega kakava, pri tem pa ponujajo številne ekološke in ekonomske prednosti.

Ta prispevek se osredotoča na analizo trenutnega stanja čokoladne industrije, izzive, s katerimi se sooča, in raziskovanje možnosti uporabe trajnostnih alternativ. Proučuje prednosti in slabosti teh alternativ ter raziskuje potencial za njihovo širšo uporabo v industriji. Namen prispevka je ponuditi vpogled v prihodnost čokolade kot trajnostnega izdelka ter izpostaviti ključne dejavnike, ki bodo oblikovali razvoj industrije v prihodnosti.

1.1 O PODJETJU

Podjetje Incom d.o.o. iz Ajdovščine je eno vodilnih imen evropske industrije sladoleda in čokolade, ki s svojimi inovativnimi izdelki navdušuje potrošnike na vseh celinah. Od skromnih začetkov leta 1991 je zraslo v največjega proizvajalca sladoleda v Sloveniji ter se uvrstilo med 15 največjih v Evropi. Vsak dan iz njihovih proizvodnih linij pride več kot 3,4 milijona kosov sladoleda, ki jih izvažajo v več kot 40 držav, od Evrope in ZDA do Avstralije. Ključne blagovne znamke podjetja, LEONE in AL!VE, slovijo po edinstvenih okusih, vrhunski kakovosti in atraktivnem dizajnu, podjetje pa za svoje dosežke redno prejema tako nacionalna kot tudi mednarodna priznanja za svoje izdelke, s čimer svojo vrhunskost le še dodatno potrjuje.

Incom je sinonim za napredno tehnologijo, agilnost in trajnost. Proizvodnja podjetja temelji na digitalizaciji in visoki stopnji avtomatizacije, kar omogoča izjemno prilagodljivost in učinkovitost. Z raznolikimi in velikokrat lastnimi rešitvami podjetje zmanjšuje stroške, optimizira energijsko porabo in hkrati zmanjšuje svoj okoljski odtis. Filozofija podjetja temelji na razvoju izdelkov, ki ne samo sledijo, ampak tudi ustvarjajo trende – naj gre za proteinske sladolede, čokolade z nižjo vsebnostjo sladkorja ali trajnostno pridobljene sestavine. Z jasno usmeritvijo v krožno gospodarstvo podjetje dokazuje, da je mogoče združiti vrhunski okus, odgovornost do okolja in poslovno uspešnost. Naš pristop temelji na stalnem raziskovanju, vlaganju v razvoj in pogumnem iskanju novih poti.

2 KAJ JE TRAJNOSTNA ČOKOLADA?

Trajnostna čokolada je koncept, ki združuje okoljsko odgovornost, socialno pravičnost in ekonomsko izvedljivost v proizvodnji in distribuciji čokolade. V dobi, kjer se potrošniki vse bolj zavedajo pomena trajnostnih praks, predstavlja trajnostna čokolada pomemben korak k boljši prihodnosti prehranskega sektorja.

Trajnostno je nekoč samo pomenilo, da je nekaj mogoče narediti za vedno, saj porabljenih virov ali energije nikoli ne bi zmanjkalo. Trajnostna čokolada pa ne pomeni več zgolj, da je nekaj mogoče proizvajati v nedogled, temveč vključuje celovit pristop, ki upošteva ekološke, družbene in gospodarske vidike pridelave. Takšna čokolada je proizvedena iz kakavovih zrn, pridelanih na način, ki zmanjšuje okoljski odtis, spodbuja trajnostne kmetijske prakse in zagotavlja pravično obravnavo vseh deležnikov v dobavni verigi. Med ključnimi cilji trajnostne čokolade so izogibanje uporabi otroškega dela, zagotavljanje poštenega plačila kmetom ter varovanje okolja in biotske raznovrstnosti (International Cocoa Initiative, 2022).

Obstajajo številne pobude in certifikati, ki pomagajo spodbujati trajnostno pridelavo kakava. Fairtrade je eden najprepoznavnejših certifikatov za trajnostne izdelke. Kmetom v državah v razvoju zagotavlja stabilnejše cene in možnost razvoja lokalnih skupnosti prek dodatka za razvoj skupnosti (t. i. Fairtrade Premium) (Fairtrade Foundation, 2023). Hkrati spodbuja uporabo okolju prijaznih tehnik pridelave. Rainforest Alliance pa se osredotoča predvsem na okoljske vidike trajnosti: spodbuja prakse, ki zmanjšujejo krčenje gozdov, varujejo tla in vodne vire ter hkrati izboljšujejo življenjske pogoje pridelovalcev (Rainforest Alliance, 2023). Kmetje, vključeni v te sheme, pogosto pridobijo tudi dostop do izobraževanja in podpornih programov, ki jim pomagajo prilagoditi pridelavo podnebnim spremembam (World Cocoa Foundation, 2023).

3 TEŽAVE PRI PREDELAVI KAKAVA

Podnebne spremembe, krčenje gozdov in izguba biotske raznovrstnosti so največji izzivi za sisteme pridelave kakava. Zlasti v Zahodni Afriki, kjer se prideluje večina svetovnega kakava, se temperature dvigajo hitreje od svetovnega povprečja, kar ogroža pogoje za gojenje kakava. Vse več ekstremnih vremenskih pojavov, kot so suše, poplave in vročinski valovi, vpliva na kmetijske prakse in zmanjšuje letine. Zaradi teh sprememb se predvideva, da bo do leta 2050 področje, primerna za pridelavo kakava, znatno zmanjšano. Še posebej sta prizadeti državi Slonokoščena Obala in Gana, kjer je koncentriranih približno 60 % svetovne proizvodnje kakava (The International Cocoa Initiative, 2021). Podnebne spremembe spodbujajo tudi širjenje rastlinskih bolezni, katerih zaščita postaja vse bolj zahtevna, obenem pa prinaša višje proizvodne stroške, ki lahko vodijo v nezakonite prakse, kot je otroško delo (The Economist, 2024).

Še en velik izziv pri pridelavi kakava je krčenje gozdov. Kmetje pogosto krčijo gozdove, da bi povečali obdelovalne površine, kar ima negativne posledice za okolje in biotsko raznovrstnost. Evropska unija je v okviru Evropskega zelenega dogovora sprejela deforestacijsko uredbo o krčenju gozdov, ki prepoveduje vnos kakava, pridelanega na zemljiščih, kjer so bili krčeni gozdovi. Ta uredba bo imela pomembne posledice za čokoladno industrijo, saj bo proizvajalce prisilila, da se prilagodijo novim zahtevam, kar bo najverjetneje vodilo v višje stroške ali celo zapiranje nekaterih tovarn, ki ne bodo mogle zagotoviti sledljivosti svojih sestavin (European Commission, 2023).

Kljub vsem težavam povpraševanje po čokoladi narašča. Še posebej zaradi rasti srednjega razreda in naraščajoče priljubljenosti čokolade v novih trgih, kot so Kitajska in Indija. Cena kakava je v zadnjem letu skokovito narasla, kar predstavlja težave za proizvajalce čokolade. Visoke cene so posledica številnih dejavnikov, vključno z ekstremnimi vremenskimi razmerami in boleznimi rastlin. Vendar pa kljub temu kmetje v večini primerov ne prejemajo višjih cen za svoj pridelek, kar vodi v revščino in socialno neenakost v državah proizvajalkah kakava. Poleg tega nizke cene zmanjšujejo spodbude za povečanje pridelave, kar še povečuje težave v oskrbovalnih verigah (World Cocoa Foundation, 2023). Posledično so se predvsem v zadnjem letu prodajne cene čokolade povzpele. Nekatere države, kot je Ekvador, povečujejo svojo proizvodnjo, vendar strokovnjaki napovedujejo, da bodo visoke cene čokolade verjetno ostale tudi v prihodnosti (The Guardian, 2024). Mnogi proizvajalci ne morejo prenesti teh povišanj na potrošnike. Ta neskladnost med povpraševanjem in ponudbo je povzročila precejšnje pritiske na čokoladno industrijo (Mintel, 2023).

Kljub težavam, s katerimi se sooča industrija čokolade, se odpira priložnost za inovacije. Proizvajalci bodo morali najti načine, kako obvladati naraščajoče cene, hkrati pa obdržati privlačnost svojih izdelkov za potrošnike. Kot odgovor na to, se raziskujejo različni nadomestki za kakav, ki bi lahko zmanjšali odvisnost od tega dragocenega vira, vendar hkrati ohranili okus in teksturo čokolade.

4 KAKAV IN NADOMESTKI ZANJ

Kakav ima dolgo zgodovino, ki vključuje številne kulture. Je pomembna kmetijska surovina, saj je glavna sestavina pri proizvodnji čokoladnih izdelkov, kar ima pomembne ekonomske in socialne posledice za milijone ljudi po vsem svetu. Kakav izvira iz semen kakavovca, rodu *Theobroma* iz družine Sterculiaceae. Kakavovec (*Theobroma cacao* L.) je majhno, široko razvejano trajno drevo, visoko 12–15 m, ki izvira iz Južne Amerike in

naravno raste v spodnjem sloju zimzelenega deževnega gozda. Danes se njegovo gojenje razširja po vsem svetu, v območjih z ustreznim okoljem za kakav, vključno z ekvatorialnimi regijami Afrike in Azije. Ta območja so približno 20 stopinj severno in južno od ekvatorja in so značilna po višji temperaturi, stalni visoki vlažnosti in obilnem deževju. Gojenje kakava zahteva temperature med 18 in 32 °C, padavine med 1000 in 4000 mm ter vlažnost med 70 in 80 % podnevi in 90 in 100 % ponoči (Loullis in Pinakoulaki, 2018).

Za premagovanje izzivov povečanega povpraševanja po kakavu, nihanjem oskrbe s kakavom in pritiska na zvišanje cen kakava, je potrebno uporabiti druge surovine, kot nadomestke za kakav. Potencialni nadomestkov za kakav je mnogo, med drugimi rožič, grozdne peške, ječmenov slad in celo koriander.

4.1 ROŽIČ KOT NADOMESTEK KAKAVA

Rožič je plod zimzelenega drevesa (*Ceratonia siliqua* L.), ki ga že od antičnih časov gojijo v sredozemskem območju in je znan po svoji dragoceni rožičevi gumi ter prahu in sirupu, pridobljenih iz rožičevega mesa. Šteje se za pomembno sestavino sredozemske vegetacije zaradi svojega okoljskega in ekonomskega pomena. Rožičevo drevo je trajno, zimzeleno drevo, visoko do 8–17 m, z debelim deblom in močnimi vejami. Dobro uspeva na območjih s subtropskim podnebjem, za katero so značilne hladne zime, blage do tople pomladi in topla do vroča poletja. Glavne države proizvajalke so Španija in Italija, ki sta leta 2014 proizvedli 20 % svetovne proizvodnje (Loullis in Pinakoulaki, 2018).

Plodovi, ki jih proizvaja rožičevo drevo, so v obliki stroka. Strok, ko je popolnoma zrel, je svetlo do temno rjave barve, podolgovat, sploščen, raven ali rahlo ukrivljen, z nagubano usnjato površino. Dve glavni sestavini rožičevega stroka sta meso in semena. Večino stroka, kar 90 %, predstavlja meso. Semena iz rožičevih strokov se večinoma uporabljajo za proizvodnjo rožičeve gume (LBG, E-410), ki se dodaja kot sredstvo za zgoščevanje in stabilizator v živilih. Meso pa se je uporabljalo za živalsko krmo, vendar se raziskovalci v zadnjem času osredotočajo na njegovo uporabo kot prehransko sestavino predelano v prah (Loullis in Pinakoulaki, 2018).

Uporaba rožičevega prahu kot nadomestka za kakav v različnih živilskih izdelkih se danes povečuje. Salem in Fahad (2012) sta raziskovala nadomestitev kakava s prahom iz rožičevih strokov pri izdelavi mlečne čokolade v deležih od 25 % do 100 %. Nato so analizirali prehransko sestavo in senzorične lastnosti teh vzorcev ter jih primerjali s kontrolnim vzorcem, ki je vseboval samo kakava.

Rezultati prehranske analize so pokazali, da je dodatek rožičevega prahu rahlo povečal vsebnost beljakov in v čokoladi. Z večanjem deleža rožica so se močno povišali tudi reducirajoči sladkorji, minerali in vlaknine. Medtem ko se je vsebnost skupnih in nereducirajočih sladkorjev, maščob in ostalih ogljikovih hidratov zmanjšala v primerjavi s kontrolnim vzorcem. Eden najbolj opaznih učinkov, z večanjem deleža rožičevega prahu, je bil postopno zmanjšanje ravni kofeina, pri 100 % nadomestitvi kakava z rožičem pa je bil kofein popolnoma odsoten (Salem in Fahad, 2012).

Pri senzorični oceni je bilo ugotovljeno, da dodatek rožičevega prahu izboljša funkcionalne in senzorične lastnosti čokolade, pri čemer so vzorci z višjimi deleži rožičevega prahu dosegli visoko stopnjo sprejemljivosti med ocenjevalci, kar kaže, da je rožičev prah odličen kandidat za nadomestitev kakava pri proizvodnji izdelkov, podobnih čokoladi. Poleg tega uporaba rožičevega prahu omogoča proizvodnjo čokolade brez kofeina, kar je lahko privlačno za potrošnike, občutljive na kofein (Salem in Fahad, 2012).

Raziskava Lanfranchi in sodelavcev (2019) se je osredotočala na uporabo rožičeve moke kot nadomestka za kakav pri izdelavi čokolade, s poudarkom na senzorični sprejemljivosti med potrošniki in na prehranskih ter funkcionalnih lastnostih rožiča.

V raziskavi je sodelovalo 192 rednih uživalcev čokolade iz Sicilije, starih med 18 in 52 let. Udeleženci so ocenjevali vzorce čokolade izključno iz kakava ter čokolade, pripravljene z mešanico 50 % kakavove mase in 50 % rožičeve moke. Rezultati so pokazali, da ni bilo pomembnih razlik v barvi, sladkosti, izgledu in strukturi

med čokolado iz kakava in iz rožiča, kar pomeni, da lahko rožič do neke mere posnema vizualne in teksturne lastnosti kakava. Pomembne razlike pa so se pokazale v sijaju, aromi, grenkobi, kislosti in pookusu. Večina udeležencev je kakav ocenila kot bolj sijoč in z intenzivnejšo aromo, medtem ko je bil rožič ocenjen kot bolj moten in z višjo stopnjo grenkobe. Kljub temu je presenetljiv delež anketirancev (skupno 55,6 %) oba izdelka označil za prijetna ali zelo prijetna (Lanfranchi in sod., 2019).

Lansko leto (2024) so Smuda in sod., raziskovali razvoj funkcionalnih, čokoladnih namazov z uporabo različnih alternativnih sestavin. Poleg rožiča so uporabili tudi čičeriko, črni riž, dom palmini sadež (doum), datljeva semena in rdečo peso. Cilj je bil oceniti prehransko vrednost, antioksidativno delovanje, teksturo, senzorične lastnosti, stabilnost med shranjevanjem ter izvedljivost z vidika stroškov v primerjavi s klasičnim kakavovim namazom. Uporaba nadomestkov kakava je bila 100 %, kar pomeni, da je bila vsaka formula izdelana popolnoma brez kakava. Rezultati kemijske analize so pokazali razlike v vsebnosti beljakovin, maščob, vlaknin in energijske vrednosti: čičerika je imela najvišjo vsebnost beljakovin (18,03 %) in najvišjo energijsko vrednost (573,14 kcal/100 g), medtem ko je imela rdeča pesa najnižjo vsebnost maščob in najnižjo energijsko vrednost (498,11 kcal/100 g). Receptura na osnovi rožiča je bila relativno nizka v vsebnosti beljakovin (12,49 %), vendar je imela visoko vsebnost polifenolov (428,99 mg GAE/100 g).

Senzorična analiza je pokazala, da so bile recepture iz čičerike, črnega riža, rožiča in douma primerljivo sprejete kot čokoladni namaz iz kakava. Datljev in pesin namaz pa sta bili ocenjeni kot manj sprejemljiva, predvsem zaradi arome in barve. Po analizi teksture so bile vse alternative mehkejšje od klasičnega kakavovega namaza. Mikrobiološka stabilnost vseh receptur je bila ustrezna tudi po 9 mesecih shranjevanja. Izmerjene vrednosti peroksidov so ostale nizke, kar nakazuje stabilnost in prisotnost naravnih antioksidantov. Pomemben vidik študije je bila tudi ekonomska analiza, kjer je bila proizvodnja rožičevega in datljevega namaza bistveno cenejša od klasičnega namaza iz kakava (Smuda in sod., 2024).

Pri nekaterih potrošnikih je kakav manj zaželen zaradi grenkih not. V študiji García-Díez in sod. (2022) so avtorji raziskovali potencialno uporabo mešanice kakava in rožičeve moke kot funkcionalnega živila z zmanjšano grenkobo, ki bi lahko predstavljalo bolj zdravo alternativo tradicionalnim sladkanim kakavovim napitkom. Pripravili so homogeno mešanico iz 60 % naravnega kakava in 40 % rožičeve moke ter jo podrobno analizirali z vidika prehranske sestave, polifenolne vsebnosti, antioksidativne aktivnosti in senzorične sprejemljivosti. Mešanica je izkazovala izjemno visoko vsebnost prehranskih vlaknin (55,7 %), med katerimi so prevladovale netopne, a je kljub temu dosegla zadovoljivo vodotopnost in sposobnost disperzije, kar jo naredi primerno za pripravo toplih napitkov z mlekom. Poleg tega je vsebovala znatno količino bioaktivnih spojin, kot so polifenoli (skupaj 16,7 g/100 g), zlasti neekstrahirljive proantocianidine, ki so povezani z antioksidativnimi učinki in potencialnimi koristmi za zdravje, predvsem preko interakcij z mikrobioto debelega črevesa. Senzorična analiza, izvedena med 100 neizurjenimi prostovoljci, je pokazala, da je bila mešanica znatno manj grenka kot čisti kakav. Ko so bili udeleženci seznanjeni z možnimi zdravstvenimi koristmi izdelka, se je njihova splošna sprejemljivost in ocena okusa statistično pomembno izboljšala.

Rožič se lahko uporablja kot nadomestek za kakav v več izdelkih na osnovi kakava in čokolade, vključno z alternativami čokoladi, čokoladnim piškotom, napitki, žitnimi kosmiči in ploščicami, jogurtom, sladoledom in drugimi (Loullis in Pinakoulaki, 2018).

Zaključki raziskav podpirajo možnost uporabe rožiča kot delni ali popolni nadomestek za kakav v čokoladnih izdelkih, še posebej zaradi prehranskih prednosti (nizek delež maščob, odsotnost kofeina, visoka vsebnost kalcija) in sprejemljivosti pri določenem deležu potrošnikov. Razvoj izdelkov iz rožiča tudi družbeno-gospodarski potencial za kmetijstvo in lokalno proizvodnjo v sredozemskem prostoru. Potrebno je izpostaviti potrebo po nadaljnjih raziskavah in večji promociji teh izdelkov kot funkcionalne hrane (Lanfranchi in sod., 2019).

Preglednica 1: Primerjava prehranskih vrednosti med rožičevim prahom in kakavom v prahu (interni podatki Incom d.o.o.)

	Rožičev prah	Kakav v prahu
Energijska vrednost na 100g	1395,2 kJ/ 334 kcal	1249,5 kJ/ 301 kcal
Maščobe	2,4 %	11 %
od tega nasičene maščobe	0,02 %	6,8 %
Ogljikovi hidrati	37 %	12,5 %
od tega sladkorji	11,9 %	1 %
Prehranske vlaknine	39,3 %	32 %
Beljakovine	21,2 %	22 %

4.2 GROZDNE TROPINE IN PEŠKE KOT NADOMESTE KAKAVA

Grozdne peške in tropine so v zadnjih letih postale obetavna alternativa kakavu v proizvodnji različnih prehranskih izdelkov, kot so čokolada, slaščice, maščobni oblivi, pekovski izdelki in druge vrste živil. Bogate so z bioaktivnimi snovmi, vključno s flavonoidi, polifenoli in prehranskimi vlakninami, ki so znane po svojih antioksidativnih lastnostih in pripomorejo k zdravju ljudi (Šporin in sod., 2018). V primerjavi s kakavom, katerega proizvodnja je zaradi visokih stroškov in nestanovitnosti na trgu pogosto otežena, so grozdne peške cenovno dostopna alternativa, ki omogoča trajnostno izrabo kmetijskih stranskih produktov.

Kakav je kot ključna sestavina v čokoladnih izdelkih cenjen zaradi svoje visoke vsebnosti flavonoidov, ki so odgovorni za njegove antioksidativne učinke (Bender in sod., 2017). Vendar pa so grozdne peške v nekaterih študijah pokazale še bolj izrazite antioksidativne lastnosti, saj vsebujejo višje koncentracije polifenolov in flavonoidov kot kakav (Šporin in sod., 2018). Dodatno imajo grozdne peške visoko vsebnost prehranskih vlaknin, ki izboljšujejo prebavo in povečujejo hranilno vrednost končnih izdelkov (Acan in sod., 2020).

Poleg tega grozdne peške vsebujejo manj maščob kot kakav, kar pomeni, da jih je mogoče uporabiti v določenih aplikacijah brez povečanja vsebnosti maščob v končnem izdelku. To je še posebej pomembno v proizvodnji izdelkov, kjer je nadzor nad vsebnostjo maščob ključen (Bender in sod., 2017). Raziskave so pokazale, da lahko stranski produkti pri pridelavi vina, kot so grozdne tropine, nadomestijo kakav v različnih prehranskih aplikacijah, vključno s čokoladnimi namazi, slaščicami in drugimi izdelki, kjer želimo izdelke obogatiti z antioksidativnimi lastnostmi in prehransko vlaknino. Grozdne tropine so lahko koristne tudi v čokoladnih izdelkih, saj ne le izboljšajo hranilno vrednost, temveč tudi prispevajo naravne bioaktivne snovi (Acan in sod., 2020). Poleg tega prisotnost prehranskih vlaknin pomaga izboljšati teksturo in stabilnost izdelkov, kar je še posebej pomembno pri čokoladnih maščobnih namazih.

Grozdne tropine predstavljajo tudi obetaven in cenovno ugoden nadomestek za sladkor in mleko v prahu v čokoladnih namazih. Acan in sod. (2021) so raziskovali vpliv uporabe suhih grozdnih tropin iz grozdja Cabernet sauvignon v sestavi čokoladnega namaza. Njihovi rezultati so pokazali, da je povečana vsebnost grozdnih tropin vplivala na teksturne lastnosti izdelka, pri čemer je večji delež tropin povzročil trše vzorce. Hkrati so se antioksidativne lastnosti izboljšale, saj grozdne tropine vsebujejo polifenole in druge bioaktivne spojine, ki so povezane s koristmi za zdravje. Senzorična ocena je pokazala, da so vzorci z več kot 10 % grozdnih tropin slabše ocenjeni zaradi grenkih fenolnih spojin, medtem ko so vzorci z nižjo vsebnostjo tropin dosegli podobne rezultate kot kontrolni vzorci.

Gorodyska in sod. (2018) so raziskovali varnost grozdnih pešk v prahu kot alternative kakavovemu prahu v oblivih za slaščice. Njihove ugotovitve so pokazale, da so grozdne peške vsebovale bistveno manj težkih kovin, kot so svinec, kadmij, baker in cink, v primerjavi s kakavovim prahom. Prav tako je bila vsebnost radionuklidov in mikotoksinov v grozdnih peškah nižja od dovoljenih vrednosti. Nižja je bila tudi koncentracija nitratov v primerjavi s kakavovim prahom, kar nakazuje, da so grozdne peške varnejše za uporabo v hrani. Vse preučevane vrste maščobnih oblivov, ki so vključevale prah grozdnih pešk kot delno zamenjavo kakava, so imele nižjo vsebnost težkih kovin in dobro mikrobiološko stabilnost. Senzorični testi so pokazali, da so oblivi z grozdnimi

peškami ohranili visoko kakovost, brez neprijetnih priokusov ali vonjav. Na podlagi teh rezultatov so prah iz grozdnih pešk in pogača brez olja iz grozdnih pešk varni za uporabo.

Uporaba stranskih produktov pri predelavi grozdja v vino, kot so grozdne tropine, je bila testirana tudi v drugih živilskih izdelkih. Šporin in sodelavci (2018) so preučevali vpliv dodajanja moke iz grozdnih tropin dveh sort grozdja ('Merlot' in 'Zelen') na lastnosti pšeničnega testa in kruha. Pomembna ugotovitev študije je bila povečanje vsebnosti fenolnih spojin in antioksidativne aktivnosti v kruhu, sorazmerno z večanjem deleža grozdnih tropin. Bender in sodelavci (2017) so pokazali, da je vključitev prahu iz kožic grozdja sort Riesling in Tannat v recepturah za mafine znatno povečala vsebnost prehranske vlaknine, predvsem topnih vlaknin.

Grozdne tropine in peške tako predstavljajo obetavno alternativno sestavino za kakav v proizvodnji čokoladnih izdelkov, slaščic, maščobnih oblívov, pekovskih izdelkov in drugih živil. Omogočajo ne le prehransko in funkcionalno vrednost živil, zaradi svojih bioaktivnih lastnosti, temveč tudi prispevajo k boljši izrabi živilskih stranskih produktov. Čeprav je njihova uporaba v čokoladi še v fazi raziskav, kažejo na velik potencial za trajnostno proizvodnjo v industriji.

Preglednica 2: Primerjava prehranskih vrednosti med grozdnimi tropinami in kakavom v prahu (interni podatki Incom d.o.o.)

	Grozdne tropine	Kakav v prahu
Energijska vrednost na 100g	1130 kJ/ 276 kcal	1249,5 kJ/ 301 kcal
Maščobe	9,9 %	11 %
od tega nasičene maščobe	< 3 %	6,8 %
Ogljikovi hidrati	6,1 %	12,5 %
od tega sladkorji	< 3 %	1 %
Prehranske vlaknine	59 %	32 %
Beljakovine	11 %	22 %

4.3 JEČMENOV SLAD KOT NADOMESTEK KAKAVA

Ječmenov slad, pridobljen iz praženega ali kaljenega ječmena, predstavlja obetavno alternativo kakavu v proizvodnji čokoladnih in drugih živilskih izdelkov. Zaradi svojih naravnih lastnosti, kot so temna barva, prijeten sladkast okus in nizka vsebnost maščob v primerjavi s kakavom, je ječmenov slad primeren za uporabo v različnih aplikacijah, kjer se želijo doseči podobni senzorični učinki, vendar z nižjimi stroški in večjo trajnostno proizvodnjo (Van Ommeren in sod., 2015).

Patent EP2833731A1 opisuje postopek za pripravo nadomestka kakava, ki temelji na praženi pšenici, praženem in/ali slajenem ječmenu. Ta nadomestek je zasnovan tako, da posnema senzorične lastnosti kakava, vključno z okusom, barvo in aromo, ter je primeren za uporabo v različnih prehranskih izdelkih, kot so čokoladni napitki, sladice in pekovski izdelki.

Postopek vključuje predhodno praženje ječmena, ki omogoči razvoj specifičnih okusov in barvnih lastnosti, ki so podobne tistim, ki jih običajno najdemo v kakavu. Ko je ječmen pražen, se doda vroči vodi, kar omogoči ekstrakcijo pomembnih snovi. Nato se zmes koncentrira z izhlapevanjem ali sušenjem z razprševanjem, da se pridobi prah. Takšen prah se uporablja kot nadomestek za kakav v različnih živilskih aplikacijah, saj omogoča ohranjanje temne barve, okusa in teksture čokoladnih izdelkov brez izgube senzoričnih lastnosti (Van Ommeren in sod., 2015).

Ječmenov slad je bogat s kompleksnimi sladkorji, ki mu dajejo značilen sladkast okus in hkrati vsebuje pomembne bioaktivne spojine, kot so polifenoli, ki prispevajo k antioksidativnim lastnostim končnih izdelkov. Te lastnosti omogočajo, da ječmenov slad ne le povečuje hranilno vrednost, ampak tudi pripomore k daljši trajnosti izdelkov, saj antioksidanti pomagajo preprečevati oksidacijo (Van Ommeren in sod., 2015).

Vključitev ječmenovega slada v čokoladne izdelke kot nadomestilo kakava omogoča doseganje zelene temne barve in okusa, značilnih za kakav, ob hkratnem znižanju stroškov proizvodnje ter povečanju trajnosti zaradi boljše izrabe kmetijskih stranskih produktov. Ječmenov slad je poleg tega primeren tudi za uporabo v drugih živilskih izdelkih, kot so napitki, pecivo in slaščice. (Van Ommeren in sod., 2015).

4.4 KORIANDER KOT NADOMESTEK KAKAVA

Manj poznana, ampak prav tako zanimiva alternativa kakavu je tudi koriandrova pogača, stranski produkt pri stiskanju olja iz koriandrovih semen. V raziskavi, ki so jo izvedli Cheragheshahi in sod. (2025), so preučevali potencial pražene koriandrove pogače kot delnega nadomestka kakava v temni čokoladi.

Raziskava je bila zasnovana v dveh fazah. V prvi fazi so analizirali vpliv različnih časov praženja koriandrove pogače na njene fizikalno-kemijske lastnosti, vključno s pH vrednostjo, vodno aktivnostjo, stabilnostjo barve in vsebnostjo bioaktivnih spojin. Ugotovili so, da je šestminutno praženje pri 165 °C optimalno, saj so pri tem dosegli najvišjo koncentracijo fenolnih spojin in antioksidativne aktivnosti, hkrati pa je bila barva pogače primerna za uporabo v čokoladnih izdelkih. Po kemijski sestavi in senzoričnih lastnostih se je pražena koriandrova pogača zelo približala profilu kakava (Cheragheshahi in sod., 2025).

V drugi fazi raziskave so avtorji uporabili praženo koriandrovo pogačo kot delni nadomestek kakava in sladkorja v različnih formulacijah temne čokolade. Optimizirali so sestavo čokolade in ocenili vpliv različnih deležev koriandrove pogače na kakovost končnega izdelka. Vključeni so bili testi teksture, reoloških lastnosti, barvnih parametrov in senzorične ocene. Rezultati so pokazali, da čokolada z dodatkom pražene koriandrove pogače ni imela bistvenih odstopanj v primerjavi s klasično čokolado. Viskoznost in reološke lastnosti so ostale znotraj sprejemljivih mej, tekstura in velikost delcev pa sta bila skladna s tehnološkimi zahtevami za čokolado, saj so vsi vzorci imeli velikost delcev pod 35 µm (Cheragheshahi in sod., 2025).

Pražena koriandrova pogača ima velik potencial kot delni nadomestek kakava v industriji čokolade. Vsebuje bioaktivne spojine, ki imajo lahko blagodejne učinke na zdravje potrošnikov. Poleg zdravstvenih koristi njena uporaba prispeva tudi k trajnostnemu razvoju, zmanjšanju stroškov in večji dostopnosti čokoladnih izdelkov v obdobju naraščajočih cen surovin. Kot stranski produkt oljne industrije predstavlja učinkovito priložnost za izrabo odpadnih surovin, kar prispeva k zmanjšanju ekološkega odtisa in spodbuja bolj krožni model proizvodnje hrane (Cheragheshahi in sod., 2025).

5 PRIMERI IZ TRGA

Čokolada je danes vseprisotna v živilski industriji, vendar to morda ne bo več veljalo čez nekaj desetletij. Več inovativnih zagonskih podjetij že uporablja stranske tokove kmetijstva in bolj trajnostne sestavine za izdelavo čokoladnih alternativ. Medtem ko nekatera že gojijo celice kakava v bioreaktorjih za izdelavo bioidentičnih izdelkov, kot sta kakav v prahu in maslo. Vodilna podjetja v čokoladnem prostoru – od Lindta in Cargilla do Mondelēza in Barry Callebauta – prepoznavajo potrebo po spremembah in podpirajo te novince z naložbami in partnerstvi (Mridul, 2024).

Voyage Foods (Amerika): Uporabljajo grozdna semena, sončnične beljakovine in druge rastlinske sestavine za ustvarjanje čokolade podobnih izdelkov. Njihovi izdelki zmanjšajo emisije za 81–84 % v primerjavi s tradicionalno čokolado. Podjetje je prejelo 25 milijonov \$ posojila USDA za gradnjo velike tovarne v Ohio.

Planet A Foods (Nemčija): Uporablja fermentacijo ovsa in ječmena za ustvarjanje "ChoViva" alternativne čokolade brez kakava. Podjetje je zbralo 53,4 milijona \$ sredstev in načrtuje širitev na evropski, ameriški in azijski trg. Med drugim sodelujejo s podjetji Lindt, Lufthansa in Deutsche Bahn. ChoViva je prav tako vključena v ponudbo zasebnih blagovnih znamk pri Rewe (in njeni podružnici Penny), Edeka, Lidl in Aldi. Podjetje dodatno dela na ChoViva maslu, ki uporablja enocelična olja, stranske tokove kmetijstva in lokalne surovine, kot je

sladkorna pesa, v maščobo, ki spominja na kakavovo maslo (predviden začetek leta 2026, odvisno od regulativne odobritve).

Win-Win (Združeno kraljestvo): Podjetje s pomočjo fermentacije razvija čokolado na osnovi rožiča in ostalih rastlinskih surovin (ječmen, moka sončničnih semen in zemeljskimi mandlji), skupaj z RSPO-certificiranim palmovim oljem in karitejevim maslom. Predstavili so že kopije različic Cadbury Wholenut, Terry's Orange in Tony's Chocolonely v omejenih serijah. Njihova trenutna ponudba za B2B stranke vključuje temno, mlečno in belo alternativno čokoladi ter vegansko različico na osnovi ovsenega napitka.

Foreverland (Italija): Drugi inovator v svetu rožiča, Foreverland iz Italije, ki je druga največja proizvajalka rožiča na svetu. Njihov izdelek se imenuje Choruba. To zagonsko podjetje rešuje pomemben problem odpadne hrane. Foreverland je že lansiral omejene serije velikonočnih jajc, praline, panettonov, in nedavno tudi mandlje v čokoladi, v sodelovanju z proizvajalcem oreščkov Pioppo. V podjetju trenutno potekajo pogovori z več blagovnimi znamkami, hkrati pa načrtujejo uvedbo novih izdelkov, kot so veganske alternative mlečni, temni in beli čokoladi ter različnim namazom. Proizvodnjo so pred kratkim vzpostavili na jugu Italije.

Nukoko (Združeno kraljestvo): Britansko zagonsko podjetje Nukoko, ki so ga ustanovili strokovnjaki iz čokoladne industrije, uporablja fermentirane bobove beljakovine za ustvarjanje čokoladi podobnih izdelkov brez kakava. Podjetje je prejelo podporo podjetja Döhler za širitev proizvodnje. Poročajo, da z nadomeščanjem kakava za bob ustvarijo 90 % manj emisij, izdelki pa vsebuje visoko vsebnost beljakovin in vlaknin, poleg tega vsebujejo 40 % manj sladkorja.

Endless Food Co (Danska): Dansko zagonsko podjetje Endless Food Co, izkorišča stranski proizvod pivovarske industrije za proizvodnjo izdelka This Isn't Chocolate (THIC). Podjetje si prizadeva ustvariti "prihodnost čokolade, ki ni povezana z palmovim oljem ali krčenjem gozdov", pri čemer je njihov izdelek povezan z 80-90 % manj emisijami. Izdelek bo na voljo v vseh 180 trgovinah 7-Eleven na Danskem, kot del piškota pod blagovno znamko Tim's Cookies.

Mycosortia (Singapur): Singapurski proizvajalec čokolade brez kakava, Mycosortia, prav tako valorizira tok odpadkov. Okaro – sojino pulpo, ki ostane pri proizvodnji tofuja – spremeni v FibProt, sestavino, ki posnema siraste in čokoladne arome. Sojin stranski produkt preoblikuje s postopkom fermentacije. Nadomestek kakavovega prahu ima oreščkast, zemeljski in umami okus ter prispeva k gladki in topljivi teksturi alternativne čokolade. Podjetje, ki deluje po B2B modelu in razvija tudi čokolade brez sladkorja, bo kmalu začelo zbirati 2 milijona \$ začetnega kapitala za vstop na trg.

Mez Foods (Amerika): Mez Foods je ena izmed novejših blagovnih znamk na trgu, ki za svojo vegansko čokolado brez kakava uporablja stroke meskita – stročnice, ki ima naravno sladek okus in nekatere podobne lastnosti kot kakav. Ta inovativna sestavina prispeva k sladkobi izdelka ter omogoča, da čokoladna tablica vsebuje kar 6 g vlaknin in do 12 g beljakovin. Poleg meskita izdelek vsebuje še moko iz tigrovih oreščkov (chufa), rožičev prah, ovsene vlaknine ter mešanico grahovitih in riževih beljakovin, fermentirano z micelijem šitak gob, skupaj z naravnimi aromami. Družinsko podjetje je trenutno v pogovorih s pekarnami in drugimi proizvajalci, da bi preverilo njihov interes za sodelovanje in odkup njihove čokoladne alternative na osnovi meskita.

Green Spot Technologies (Francija): Green Spot Technologies predeluje komercialne prehranske odpadke, kot so uporabljena pivovarska zrna, paradižnikove kože, jabolčni tropine in ostanki grozdja po vinarstvu, ter jih fermentira v hranilno bogate, visoko vlakninske praške za različne namene pod blagovno znamko Ferment'Up. Ena izmed linij izdelkov se imenuje Cocoa Alt in vključuje praške iz delov sadja, žit ali zelenjave. Podjetje je pred večjo širitvijo omogočil preprečiti 235 ton emisij prehranskih odpadkov (tehnologija ima potencial za letno proizvodnjo 100.000 kg izdelkov). Podjetje je zmagalo na Kraft Heinz Co Innovation Challenge in je finalist nagrade Earthshot 2024.

Food Brewer (Švica): Eno redkih zagonskih podjetij, ki razvijajo čokolado na osnovi celičnih kultur. Iz rastlinskih vzorcev so ustvarili celične linije za gojenje kakavovih (in kavnih) zrn v bioreaktorjih. Ko dosežejo željeno količino biomase, jih poberejo, posušijo in prepražijo. V povprečju je za vzpostavitev nove kulture rastlinskih celic potrebnih le nekaj tednov. Sodeluje s podjetjem, ki z naprednimi algoritmi sledi rasti rastlinskih celic pod nadzorovanimi pogoji. Podjetje sodeluje z Lindt & Sprüngli in Puratos ter cilja na regulativno odobritev v ZDA.

Celleste Bio (Izrael): Drugo zagonsko podjetje s področja celičnih kultur, Celleste Bio, iz kakavovega stroka vzame le eno ali dve zrna – in to le enkrat – ter jih nato goji v nadzorovanem okolju z vodo in hranili. Ta neprekinjeni cikel omogoča proizvodnjo ene tone kakavovega masla, za kar bi običajno potrebovali štiri tone kakavovih strokov. Podjetje združuje kmetijsko tehnologijo in biotehnologijo z umetno inteligenco za ekstrakcijo celic iz kakavovih rastlin. Podpira ga Mondelēz International. Trenutno intenzivno pospešuje raziskave in razvoj, širi svojo infrastrukturo ter nadgrajuje tehnološke zmogljivosti, potrebne za testno proizvodnjo in kasnejše povečanje obsega proizvodnje svojih kakavovih sestavin na osnovi celičnih kultur.

California Cultured (ZDA): Podjetje California Cultured, ki uporablja rastlinske celične kulture za proizvodnjo čokolade, zbira vzorce iz kakavove rastline z idealnimi organoleptičnimi lastnostmi in iz njih ekstrahira celice, ki jih nato goji v fermentacijskih rezervoarjih, ki posnemajo pogoje tropskih gozdov, kjer kakav uspeva. V treh do štirih dneh so celice pripravljene za fermentacijo in praženje. Septembra je prejelo kapitalno injekcijo s strani podjetja Puratos, in sklenilo 10-letno pogodbo za dobavo svojega Flavanol Cocoa Powder japonskemu čokoladnemu velikanu Meiji.

Prefer (Singapur): Podjetje je znano po svoji kavi brez zrn, zdaj razvija tudi čokolado brez kakava. Prefer se osredotoča na okus in dostopnost preko svoje fermentacijske tehnologije, ki temelji na fermentaciji odpadnega kruha, sojine pulpe in pivskega zrnja.

Kokomodo (Izrael): Pridobiva kakavove celice iz visokokakovostnih zrn iz Srednje in Južne Amerike ter jih goji v laboratoriju. Kokomodo pridobiva različne sorte in genotipe, pa tudi celične linije, ki izvirajo iz različnih delov kakavove sadike, ustvarja knjižnico kakavovih celic in analitične zmogljivosti za iskanje najboljših kakavovih celic za proizvodnjo. Podjetje je prejelo 750.000 \$ sredstev in ga je večinsko prevzelo podjetje Pluri, specializirano za celično tehnologijo. Startup je nakazal, da bo najprej raziskal lansiranje v ZDA, kjer je regulativni postopek preprostejši in hitrejši kot v Evropi.

6 ZAKAJ »TRAJNOSTNA ČOKOLADA«?

Zakaj je izraz "trajnostna čokolada" v narekovajih? Če se najprej dotaknem besede »trajnostno«. Ko govorimo o čokoladi brez kakavovih derivatov, potrebujemo tudi alternative za kakavovo maslo. Kakovost maščobnih mešanic in njihova talilna obnašanja so ključnega pomena za oblikovanje zelenih tekstur in okusov v slaščičarskih izdelkih, kot so čokolade, polnila in drugi izdelki. Maščobe, ki nadomeščajo kakavovo maslo, so posebej zasnovane, da imajo podobne talilne lastnosti, vendar z različnimi prednostmi glede na zahteve procesiranja in končne lastnosti izdelkov.

Poznamo ekvivalente kakavovega masla (CBE), nadomestke kakavovega masla (CBR) in zamenjave kakavovega masla (CBS), ki se razlikujejo glede na sestavo trigliceridov, stabilnost polimorfni oblik (kristalne strukture) in njihovo kompatibilnost s kakavovim maslom. CBE (v angleščini cocoa butter equivalents) so maščobe, ki so zasnovane tako, da imajo zelo podobno sestavo trigliceridov kot kakavovo maslo, zlasti v smislu vsebnosti glavnih trigliceridov, kot sta POST (palmitinska oleinska stearinska) in StOST (stearinska oleinska stearinska), zato so zelo kompatibilni s kakavovim maslom. Pogosto se uporabljajo za izdelavo čokolade in drugih slaščičarskih izdelkov, kjer je pomembno ohranjanje podobnih teksturnih in senzoričnih lastnosti kakavovemu maslu. CBR (cocoa butter replacers) so pogosto sestavljeni iz hidrogeniranih rastlinskih olj, kot so palmino olje, sojino olje ali bombažno olje. Vsebujejo visoke ravni *trans* maščobnih kislin, kar je lahko problematično zaradi škodljivih učinkov na zdravje, zato se v našem okolju ne uporabljajo. CBS (cocoa butter substitutes) pa so maščobe, ki vsebujeta visok

delež lavrinske kisline. Imajo nižji tališčni razpon in so mehkejše maščobe v primerjavi z CBEs in kakavovim maslom. Uporabljajo se v izdelkih, ki ne zahtevajo temperiranja, kot so nadomestki za čokoladne oblike ali druge izdelke. Zaradi nizke vsebnosti nenasičenih maščobnih kislin so CBS bolj oksidativno stabilni, vendar pa se zaradi nekompatibilnosti s kakavovim maslom uporabljajo v recepturah, kjer jim je dodan kakav z nizko vsebnostjo maščob. Vsaka kategorija maščobnih nadomestkov za kakavovo maslo ponuja prednosti in slabosti glede na specifične zahteve proizvodnje in želene lastnosti končnih izdelkov (Smith, 2012).

Ena najpogostejših rešitev so torej derivati palme, tropske rastline, ki torej pa prav tako ni lokalno dobavljiva. Čeprav se palmovi derivati pogosto uporabljajo, tudi njihova pridelava vključuje izzive, kot so širitev nasadov na območjih, kjer se uničujejo tropski gozdovi, kar vodi v izgubo biotske pestrosti in povečanje emisij toplogrednih plinov. Tako kljub temu, da se palmina olja uporabljajo kot nadomestki za kakavovo maslo, ta rešitev še vedno ne izpolnjuje načel trajnosti, saj vključuje pomemben okoljski odtis.

Ena izmed potencialnih rešitev za proizvodnjo bolj trajnostne čokolade bi lahko bila uporaba lokalnih maščob, kot sta sončnično in repično olje, ki bi ju nato zamrežili z oleogelatorji. Ta metoda bi omogočila ustvarjanje funkcionalnih lastnosti, podobnih nasičenim maščobnim kislinam. Vendar pa je potrebno še veliko testiranj in raziskav v tej smeri, saj bi lahko uporaba teh maščob privedla do novih izzivov, kot je oksidacija, kar bi lahko vplivalo na rok trajanja izdelkov. To predstavlja dodatno plast kompleksnosti pri iskanju trajnostnih rešitev, saj bo treba najti ravnotežje med okoljsko sprejemljivostjo in ohranjanjem kakovosti končnih izdelkov.

Ali se izdelek še vedno imenuje čokolada, čeprav ne vsebuje kakava? Zakonodaja za čokolado jasno določa, da mora izdelek vsebovati določen odstotek kakavovih delov, kar pomeni, da čokolada brez kakava ne sme biti poimenovana kot čokolada. Po Direktivi 2000/36/ES o izdelkih iz kakava in čokolade (člen 3), mora čokolada vsebovati najmanj 35 % skupne suhe snovi kakavovih delov, od tega najmanj 18 % kakavovega masla in najmanj 14 % suhe nemastne snovi kakavovih delov. Z uporabo alternativnih sestavin, kot so rožič, grozdne tropine in druge, ki so manj okoljsko obremenjujoče, se sicer zmanjšuje ogljični odtis in povečuje dostopnost surovin, vendar to ne more nadomestiti pravne definicije čokolade. Dodajanje drugih rastlinskih maščob, kot je opisano v Direktivi (člen 2), je dovoljeno v čokoladi, vendar v omejenih količinah (do 5 % celotne mase), brez da bi se zmanjšala vsebnost kakavovega masla.

Industrija čokolade se torej znajde v dilemi, kjer je treba tehtati med okoljsko sprejemljivostjo alternativ in ohranjanjem kakovosti izdelkov, ki jih potrošniki pričakujejo. Trajnostne rešitve za čokoladno industrijo se torej ne smejo osredotočati samo na nadomestke za kakav, ampak tudi na razvoj alternativ za ostale okoljsko obremenjujoče surovine. Menimo, da bo v prihodnosti potrebno še veliko raziskav in razvojnih prizadevanj, da bomo lahko potrošnikom ponudili izdelke, ki bodo resnično prijazni do okolja in istočasno zadostili potrebam trga ter ohranjali visoke standarde kakovosti.

7 ZAKLJUČEK

Prihodnosti čokoladne industrije se sooča z vrsto globalnih izzivov. Pridelava kakava, osrednje sestavine čokolade, je podvržena številnim negativnim vplivom, kot so podnebne spremembe, bolezni rastlin, nihanja v cenah in socialne neenakosti, medtem ko povpraševanje po čokoladi narašča, zlasti v hitro rastočih gospodarskih regijah. Zaradi teh dejavnikov postaja proizvodnja kakava vse bolj nestabilna, kar ogroža dolgoročno prihodnost čokoladne industrije. S tem se odpira potreba po iskanju novih, trajnostnih rešitev, ki bi omogočile ohranitev proizvodnje čokoladnih alternativ ob hkratnem zmanjšanju okoljskega odtisa.

Kot obetavne alternative bi lahko bile rožič, grozdne tropine, ječmenov slad in drugi stranski produkti. Ti naravni nadomestki niso le ekološko prijaznejši, ampak ponujajo tudi številne prehranske in gospodarske prednosti. Vendar pa uporaba teh alternativ ni brez svojih izzivov. Vsaka sestavina prinaša posebne tehnološke in senzorične izzive, ki jih je treba premagati, da bi nadomestki postali širše sprejeti v industriji. Zlasti vprašanje ohranjanja kakovosti končnih izdelkov je ključnega pomena, saj potrošniki še vedno pričakujejo okus, teksturo in kakovost, ki jo ponuja tradicionalna čokolada. To pomeni, da bo v prihodnosti potrebno še mnogo raziskav in razvojnih

prizadevanj, da bi dosegli optimalne mešanice sestavin in proizvodne postopke, ki bodo omogočili enako ali boljšo kakovost kot pri uporabi klasičnega kakava, hkrati pa bili bolj odgovorni do okolja in družbe.

8 VIRI

- Acan B. G., Kilicli M., Bursa K., Toker O. S., Palabiyik I., Gulcu M., Yaman M., Gunes R., Konar N. 2020. Effect of grape pomace usage in chocolate spread formulation on textural, rheological and digestibility properties. *LWT – Food Science and Technology*, 138, 110451. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110451>.
- Bender A. B. B., Speroni C. S., Salvador P. R., Loureiro B. B., Lovatto N. M., Goulart F. R., in sod. 2017. Grape pomace skins and the effects of its inclusion in the technological properties of muffins. *Journal of Culinary Science & Technology*, 15(2), 143–157.
- Cheragheshahi J., Mohamadi Sani A., Mahdian E., Mohseni S., Nazari Z. 2025. Optimization of dark chocolate formulation with roasted coriander cake as cocoa substitute. *Food Chemistry: X*, 2025, 25, 102166. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102166>.
- European Commission. 2023. Deforestation Regulation (EUDR): new rules for products placed on the EU market. [online]. Brussels: European Commission. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: https://ec.europa.eu/environment/forests/deforestation-regulation_en.htm
- Evropski parlament in Svet Evropske unije. 2000. Direktiva 2000/36/ES o izdelkih iz kakava in čokolade, namenjenih za prehrano ljudi. Uradni list Evropskih skupnosti, L 197/19, 3. avgust 2000. Dostopno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/?uri=CELEX%3A32000L0036>.
- Fairtrade Foundation. 2023. What is Fairtrade? [online]. London: Fairtrade Foundation. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.fairtrade.org.uk/what-is-fairtrade/>
- García-Díez E., Sánchez-Ayora H., Blanch M., Ramos S., Martín M. A., Pérez-Jiménez J. 2022. Exploring a cocoa-carob blend as a functional food with decreased bitterness: Characterization and sensory analysis. *LWT - Food Science and Technology*, 165: 113708.
- Gorodyska O., Grevtseva N., Samohvalova O., Savchenko O., Grygorenko A. 2018. Investigation of the safety grape-seed powder as an alternative to cocoa-powder in a confectionery glaze. *Food Science and Technology*, 12(3), 64–70. <https://doi.org/10.15673/fst.v12i3.1041>.
- International Cocoa Initiative. 2021. Climate change and cocoa production. [online]. Geneva: ICI. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.cocoainitiative.org>
- International Cocoa Initiative. 2022. Sustainable cocoa: what does it mean? [online]. Geneva: ICI. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.cocoainitiative.org/what-we-do/sustainability>
- Lanfranchi M., Zirilli A., Alfano S., Sardina Spiridione F., Alibrandi A., Giannetto C. 2019. The Carob as a Substitute for Cocoa in the Production of Chocolate: Sensory Analysis with Bivariate Association. *Quality – Access to Success*, 20 (168): 148–153.
- Loullis A., Pinakoulaki E. 2018. Carob as cocoa substitute: a review on composition, health benefits and food applications. *European Food Research and Technology*, 244(6), 959–977.
- Mintel. 2023. Chocolate Confectionery – Germany – 2023. [online]. London: Mintel Group Ltd. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.mintel.com/reports/chocolate-confectionery-germany-2023>
- Mridul A. 2024. Hot Chocolate, Hotter Planet: 14 Startups Making Cocoa-Free & Cell-Based Alternatives to Save Our Sweet Teeth. *Green Queen*, 11. december 2024 [cit. 11. april 2025]. Dostopno na: <https://www.greenqueen.com.hk/cocoa-free-chocolate-cell-based-lab-grown-companies/>
- Rainforest Alliance. 2023. Our work with cocoa. [online]. New York: Rainforest Alliance. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.rainforest-alliance.org/business/cocoa/>
- Salem E. M., Fahad A. O. A. 2012. Substituting of Cacao by Carob Pod Powder in Milk Chocolate Manufacturing. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(3): 572–578. ResearchGate.
- Smith, Kevin W. 2012. Confectionery Fats. Bedford: Fat Science Consulting Limited.
- Smuda S. S., Mohammed A. T., Tsakali E., Van Impe J. F. M., Marie A. M. 2024. Preparation and evaluation of functional cocoa-free spread alternatives from different sources. *Food Science & Nutrition*, 12: 4299–4310.
- 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*, 24(3): 252–262.
- The Economist. 2024. The price of chocolate is soaring — and it's likely to stay high. *The Economist*, 29. marec 2024 [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.economist.com/the-world-ahead/2024/03/29/the-price-of-chocolate-is-soaring>

- The Guardian. 2024. Hodalova, R. Cocoa prices at record highs as global supply crisis deepens. The Guardian, 8. marec 2024 [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.theguardian.com/environment/2024/mar/08/cocoa-prices-record-highs>
- Van Ommere, E., Corda G., Bakker J., Dahan C. 2015. Method for providing a cocoa replacer based on a material selected from roasted wheat, roasted and/or malted barley (EP2833731A1). European Patent Office.
- World Cocoa Foundation. 2023. Cocoa & Livelihoods. [online]. Washington D.C.: WCF. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.worldcocoafoundation.org/initiative/cocoa-livelihoods-program/>
- World Cocoa Foundation. 2023. Cocoa Market Update. [online]. Washington D.C.: WCF. [cit. 10. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.worldcocoafoundation.org/blog/cocoa-market-update-2023>

ALI RASTLINSKI NADOMESTKI SIRA LAHKO HRANILNO IN SENZORIČNO NADOMESTIJO SIR?

Tina PREVC¹, Andreja ČANŽEK MAJHENIČ², Alenka LEVART³, Janez SALOBIR⁴ in Tanja PAJK ŽONTAR⁵

Povzetek: Trg z rastlinskimi nadomestki mlečnih izdelkov se hitro razvija, saj le-ti postajajo pri potrošnikih vse bolj priljubljeni. Namen raziskave je bil ugotoviti, kakšna je kakovost desetih rastlinskih nadomestkov sira z oznako »klasik« ali »original«, ki smo jih kupili na slovenskem trgu. Le-to smo preverili s kemijsko in senzorično analizo. Rastlinski nadomestki sira so se po hranilni sestavi zelo razlikovali od običajnega poltrdega tipa sira. Na 100 g so povprečno vsebovali 60-krat manj beljakovin, 8-krat manj kalcija in 50 % več soli. Če upoštevamo vrednosti mediane, pa so imeli rastlinski nadomestki sira 200-krat manj beljakovin, 40-krat manj kalcija in 58 % več soli v primerjavi z običajnimi poltrdimi tipi sira. Maščobnokislinska sestava rastlinskih nadomestkov sira je bila prehransko manj ugodna od običajnega poltrdega tipa sira. Maščoba je namreč vsebovala 50 % več nasičenih maščobnih kislin, 5-krat manj enkrat nenasičenih maščobnih kislin in le tretjino večkrat nenasičenih maščobnih kislin (skoraj nič α -linolenske kisline), ampak, glede na označbo, nič trans maščobnih kislin. Senzorična kakovost je bila kljub senzoričnim napakam – odsotnost očes, drobljiva/lomljiva, peskasta in žilava tekstura, neharmoničen, oljav/maščoben in slan okus, tuj vonj ter bleđa, svetla barva – v kategoriji teh izdelkov sprejemljiva. Raziskave in razvoj tovrstnih izdelkov bi bilo smiselno usmeriti v uporabo kakovostnih surovin, ki bi vplivale na bolj ugodno hranilno sestavo in senzorične lastnosti.

Ključne besede: mlečni nadomestek, rastlinski nadomestek sira, maščobnokislinska sestava, senzorična kakovost, prehranska vrednost

CAN PLANT-BASED CHEESE SUBSTITUTES NUTRITIONALLY AND SENSORIALLY REPLACE CHEESE IN OUR DIET?

Abstract: Plant-based substitutes for dairy products represent a rapidly developing market worldwide as they become increasingly popular with consumers. This study aimed to determine the nutritional and sensory quality of ten plant-based cheese substitutes labelled »classic« or »original« purchased on the Slovenian market. The quality was checked using chemical and sensory analysis. When the results of chemical analysis were compared with the nutritional composition of a semi-hard type of cheese, the plant-based cheese substitutes differed greatly. On average, they contained 60 times less protein, 8 times less calcium and 50% more salt per 100 g of product. Considering median values, plant-based substitutes had 200 times less protein, 40 times less calcium, and 58% more salt compared to cheeses. The fatty acid composition was less favorable when compared to a regular semi-hard type of cheese: 50% more saturated fatty acids, almost five times less monounsaturated fatty acids, and only one third of the polyunsaturated fatty acids per 100 g of product, respectively, but no trans fatty acids. Despite some sensory deficiencies (absence of eyes; crumbly, granular, and tough texture; discordant, fatty, and salty taste foreign odour and pale colour), the sensory quality in this product category was acceptable overall. More research should be conducted in this area to minimize the knowledge gaps in the nutritional composition and sensory quality of plant-based cheese substitutes.

Keywords: dairy substitute, plant-based cheese, fatty acid composition, sensory quality, nutritional value

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

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Rodica, e-mail: andreja.canzek@bf.uni-lj.si

³ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Rodica, e-mail: alenka.levart@bf.uni-lj.si

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Rodica, e-mail: janez.salobir@bf.uni-lj.si

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

1 UVOD

Sir je mlečni izdelek z raznolikimi senzoričnimi lastnostmi in visoko prehransko vrednostjo (Jerónimo in Malcata, 2016). Kot sestavni del zdrave, uravnotežene prehrane je bogat vir esencialnih hranil kot so beljakovine, bioaktivni peptidi, aminokisline, večkrat nenasičene maščobne kisline, konjugirana linolna maščobna kislina, minerali (kalcij, fosfor, selen in cink) in vitamini (A, B₂ in B₁₂) (Jerónimo in Malcata, 2016; Grossman in McClements, 2021; Manuelian in sod., 2017)

V zadnjih letih se je na svetovni ravni zanimanje za način prehranjevanja, ki izključuje živila živalskega izvora in vključuje živila rastlinskega izvora, ki predstavljajo nadomestek oz. rastlinsko alternativo za živila živalskega izvora (mleko, meso, mlečni in mesni izdelki), zaradi večje skrbi za dobrobit živali, zdravja in okolja močno povečalo, ne samo pri tistih, ki se identificirajo za vegetarijance oz. vegane, ampak tudi pri ostalih potrošnikih (Forgrieve, 2018; Market research future, 2020).

Spremembe življenjskega sloga, vse večje zanimanje za alternativne načine prehranjevanja in tudi večja ozaveščenost potrošnikov o trajnostni proizvodnji hrane so vzroki za zelo hiter razvoj trga z rastlinskimi nadomestki živil živalskega izvora (Mäkinen in sod., 2016). Glavni tržni delež v kategoriji rastlinskih nadomestkov živil živalskega izvora predstavljajo rastlinski nadomestki mleka in mlečnih izdelkov (sladoled, jogurt, maslo, sir). Rastlinski nadomestki sira predstavljajo 45 % te kategorije (Market research future, 2024). Povpraševanje po teh izdelkih je posledica alergije na mlečne beljakovine, ki je pogostejša pri (mlajših) otrocih in visoke incidence laktozne intolerance (Market research future, 2020). Mäkinen in sod., (2016) ocenjujejo, da se kar 15 % evropskih potrošnikov izogiba mlečnim izdelkom tako zaradi zdravstvenih razlogov (intoleranca na laktozo, alergija na mlečne beljakovine, težave s povišano koncentracijo holesterola v krvi, fenilketonurija), kot tudi izbire življenjskega sloga (vegetarijanstvo, veganstvo) in zaskrbljenosti glede morebitne prisotnosti rastnih hormonov ali ostankov antibiotikov v kravjem mleku (Mäkinen in sod., 2016).

Glavni namen naše raziskave je bil ugotoviti, kakšna je prehranska kakovost rastlinskih nadomestkov sira brez dodatkov, z oznako »klasič« ali »original«, ki smo jih kupili na slovenskem trgu. Njihovo kakovost smo preverili s kemijsko in senzorično analizo. Rezultate kemijske analize (vsebnost maščob, maščobnokislinsko sestavo, vsebnost beljakovin, natrija in kalcija) smo primerjali s hranilno sestavo običajnega poltrdega tipa sira (gavda in edamski sir). S tem smo želeli na eni strani bolje razumeti prehransko in senzorično kakovost rastlinskih nadomestkov sira, na drugi strani pa spodbuditi proizvajalce k uporabi bolj kakovostnih surovin, ki bi izboljšale prehransko kakovost teh izdelkov, da bi postali prehransko bolj ugodni za potrošnika.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 VZORCI

Pred nakupom vzorcev smo izvedli tržni pregled, na podlagi katerega smo na slovenskem trgu našli 10 rastlinskih nadomestkov sira z oznako »klasič« ali »original«. Izdelke smo kupili v devetih večjih in manjših specializiranih trgovinah po Sloveniji ter v eni spletni trgovini. Nadaljnje analize so potekale v treh paralelakah, zato smo kupili 3 enote vsakega vzorca, in sicer v treh različnih krajih po Sloveniji, s čimer smo zagotovili neodvisnost med enotami vzorca. Vzorci, kupljeni pri spletnem prodajalcu, so bili naročeni s treh različnih naslovov. Nakup vzorcev smo opravili kot običajni potrošniki, tako da proizvajalci niso vedeli za izbor živil in nanj niso imeli vpliva. Med transportom domov smo vzorce hranili v hladilni torbi z namenom vzdrževanja neprekinjene hladne verige. Prav tako smo vzorce do analiz hranili v hladilniku pri temperaturi 4 °C. Vsi vzorci so bili zapakirani v modificirani atmosferi. Vzorci so imeli od dneva nakupa zelo različne roke uporabnosti, od 4 tednov do 10 mesecev, vendar nobenemu vzorcu do zaključka analiz ni potekel rok uporabnosti. Senzorična analiza je bila izvedena takoj po odprtju vzorcev pri temperaturi 14 ± 2 °C. Pred pričetkom kemijskih analiz smo vse vzorce zamrznili v zamrzovalniku pri -20 °C. Zamrznjene vzorce smo narezali na manjše kose in jih ob tekočem dušiku homogenizirali v laboratorijskem homogenizatorju Grindomix (GM 200), proizvajalca Retsch (Nemčija). Vzorce smo takoj prenesli v polietilenske vrečke, iz vrečk iztisnili zrak in jih zaprli. Hranjenje je potekalo na -80 °C v temi.

2.2 KEMIJSKA ANALIZA

Vsem vzorcem smo določili vsebnost celokupnih maščob, maščobnokislinsko sestavo, vsebnost beljakovin, natrija in kalcija.

Vsebnost celokupnih maščob smo določili z ekstrakcijo s petroletrom na modificiranem Soxhletovem aparatu. Pred tem smo izvedli hidrolizo vzorcev s 37 % HCl in deionizirano vodo v hidrolizni enoti SC 247 SoxCap. Po končani ekstrakciji smo topilo odparili, stehali preostanek po sušenju in iz razlike mas ekstrakcijske bučke pred oz. po ekstrakciji ter zatehte vzorca izračunali vsebnost celokupnih maščob (KTMVŽ in FOSS, 2019). Vsebnost beljakovin smo določili preko zmnožka faktorja 6,25 in celokupnega dušika določenega po Kjeldahlovi metodi. Vsebnost natrija in kalcija smo določili s plamensko atomsko absorpcijsko spektrometrijo v solnokislinskih izvlečkih vzorcev, ki smo jih pripravili iz surovih pepelov po žarjenju vzorcev pri 550 °C (Plestenjak in Golob, 2003).

Maščobnokislinsko sestavo vzorcev smo določili s plinsko kromatografijo. Za analizo je bilo potrebno pripraviti metilne estre maščobnih kislin, katere smo pripravili po postopku, ki sta ga razvila Park in Goins (1994) brez predhodne ekstrakcije maščob iz vzorca. Za določitev masnih deležev posameznih maščobnih kislin v vzorcu smo uporabili standardne mešanice metilnih estrov maščobnih kislin.

2.3 SENZORIČNA ANALIZA

Senzorično analizo je izvedel 5 članski strokovni panel Katedre za mlekarstvo Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Pri ocenjevanju smo uporabili interno metodo povzeto po ISO 22935-2 in ISO 22935-3.

Senzorične lastnosti sira se običajno ovrednoti po sistemu 20 točk. V našem primeru smo senzorično analizo morali prilagoditi. Določene lastnosti, kot je prerez sira, smo izločili, saj tovrstni izdelki nimajo očes, ohranili pa smo tiste lastnosti, ki jih ti izdelki lahko dosežejo. Za izgled, teksturo in barvo je izdelek skupno lahko dosegel 5 točk, enako število točk pa tudi za vonj in okus. Izdelek je tako lahko dosegel maksimalno 10 točk. Ocenjevalni razpon za združene ocenjevalne lastnosti je bil 0,50 točke. Vsak vzorec smo ocenili v treh paralelkah. Med senzorično analizo je strokovni panel po individualni oceni izvedel takojšnje usklajevanje in za vsak izdelek podal povprečno oceno. Za tak pristop podajanja rezultatov senzorične analize se je strokovni panel odločil zaradi specifičnosti analiziranih izdelkov (rastlinski nadomestki sira). V obrazec smo zapisali tudi napake senzoričnih lastnosti, ki jih je strokovni panel zaznal pri vzorcih.

Terminologija za opis napak senzoričnih lastnosti:

- Izgled in barva: dvobarven, progast, marmoriran, bled, brez sijaja, brezbarven;
- tekstura: trd, čvrst, grobo zrnat, grudast, drobljiv, peščen, zdrobast, kredast, krhek, žilav, lepljiv, elastičen, gladek, mehak, pastozen, mazast, premalo čvrst, spužvast, slojast;
- vonj in okus: nečist, tuj, neznačilen, žarek, lojast, milnat, gniloben, plehek, oster, sladek, kisel, grenek, trpek, slan, kovinski, žveplast, po kemikalijah, nesvež, prazen, voden, zatohel, zažgan, kvasast.

Vzorci so bili servirani na keramičnih krožnikih pri temperaturi 14 ± 2 °C, označeni s trimestnimi kodami in razdeljeni preskuševalcem po en vzorec na enkrat. Senzorična analiza je trajala 1,5 ure, za nevtralizacijo ust med posameznimi vzorci, pa so preskuševalci uporabili vodo iz pipe.

2.4 STATISTIČNA ANALIZA

Za karakterizacijo rastlinskih nadomestkov sira smo uporabili opisno statistiko. Ker večina pridobljenih podatkov ni sledila normalni porazdelitvi, smo za primerjavo med rastlinskimi nadomestki sira in običajnimi poltrdimi siri uporabili Wilcoxon Mann-Whitney U test. Analiza podatkov je bila izvedena s programsko opremo SAS (9.4) (SAS Institute Inc., Cary, NC, ZDA). Postopek NPAR1WAY je bil zaradi relativno majhne velikosti vzorca izveden s stavkom »Natančno«.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednici 1 in preglednici 2 so predstavljeni rezultati kemijske analize in maščobnokislinska sestava rastlinskih nadomestkov sira.

3.1 VSEBNOST MAŠČOB IN MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA V RASTLINSKIH NADOMESTKIH SIRA

Vsebnost maščob v analiziranih vzorcih rastlinskih vzorcih je bila med 18,58 g/100 g in 24,43 g/100 g. Le en vzorec (9) je vseboval manj kot 20 g maščob/100 g (preglednica 1).

Preglednica 1: Rezultati kemijske analize rastlinskih nadomestkov sira

Vzorec	Suha snov (g/100 g) $\bar{x} \pm SD$	Vsebnost celokupnih maščob (g/100 g) $\bar{x} \pm SD$	Vsebnost beljakovin ^a (g/100 g) $\bar{x} \pm SD$	Kalcij (mg/100 g) $\bar{x} \pm SD$	Natrij (mg/100 g) $\bar{x} \pm SD$	Sol ^b (g/100 g) $\bar{x} \pm SD$
1	51,42 ± 0,19	21,32 ± 0,32	0,01 ± 0,01	604,30 ± 4,96	897,34 ± 6,07	2,24 ± 0,02
2	50,38 ± 0,82	24,42 ± 0,65	0,05 ± 0,05	6,25 ± 0,13	725,86 ± 17,23	1,81 ± 0,04
3	43,91 ± 0,30	21,94 ± 0,27	1,35 ± 0,05	225,72 ± 8,21	681,27 ± 13,35	1,70 ± 0,03
4	49,05 ± 0,70	21,28 ± 0,75	0,11 ± 0,03	23,10 ± 1,54	796,56 ± 30,75	1,99 ± 0,08
5	41,26 ± 2,27	20,79 ± 0,54	1,10 ± 0,12	18,78 ± 1,31	615,64 ± 23,51	1,54 ± 0,06
6	49,15 ± 0,64	23,36 ± 0,21	0,08 ± 0,01	14,01 ± 0,78	863,60 ± 49,37	2,16 ± 0,12
7	47,94 ± 0,70	21,24 ± 0,30	0,10 ± 0,02	11,41 ± 0,44	848,23 ± 19,33	2,12 ± 0,05
8	54,03 ± 0,72	20,66 ± 0,39	1,00 ± 0,04	20,28 ± 2,03	850,87 ± 25,23	2,13 ± 0,06
9	42,00 ± 0,36	18,58 ± 0,29	0,52 ± 0,01	21,78 ± 0,59	576,81 ± 10,53	1,44 ± 0,03
10	49,02 ± 0,52	23,43 ± 0,14	0,16 ± 0,02	12,92 ± 0,27	873,83 ± 56,89	2,18 ± 0,14
$\bar{x}$	47,81	21,70	0,46	95,85	773,00	1,93
Mediana	49,03	21,30	0,13	19,53	822,39	2,06
SD	4,15	1,68	0,50	190,5	115,47	0,29
Min	41,25	18,58	0,05	6,25	576,81	1,44
Max	54,03	24,43	1,35	604,30	897,34	2,24

^aFaktor za pretvorbo dušika v beljakovine je 6,25; ^b»sol« pomeni ekvivalent vsebnosti soli, izračunan po formuli: sol = natrij × 2,5

Maščobnokislinska sestava vseh vzorcev rastlinskih nadomestkov sira je bila zelo podobna, kar ni presenetljivo, saj je bila v vseh vzorcih glavna sestavina kokosova maščoba (preglednica 2).

Povprečna vsebnost skupnih nasičenih maščobnih kislin (NMK) je bila 91 %. Prevladovala je lavrinska maščobna kislina (12:0, v povprečju 46 %), sledile so ji miristinska (14:0, v povprečju 18 %), palmitinska (16:0, v povprečju 9 %), kaprilna (C8:0, v povprečju 8 %), kaprinska (C10:0, v povprečju 6 %) in stearinska maščobna kislina (C18:0, v povprečju 3 %). Povprečna vsebnost oleinske maščobne kisline (C18:1), iz skupine enkrat nenasičenih maščobnih kislin (ENMK), je bila 7 %. Vsi vzorci rastlinskih nadomestkov sira so vsebovali malo esencialnih maščobnih kislin. Povprečna vsebnost večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK) je bila 2 %. Delež α -linolenske maščobne kisline (C18:3 n-3) je bil zanemarljiv (v povprečju 0,03 %), preostali delež pa je predstavljal linolna maščobna kislina (C18:2 n-6).

3.2 VSEBNOST BELJAKOVIN, SOLI IN KALCIJA V RASTLINSKIH NADOMESTKIH SIRA

Večina analiziranih vzorcev rastlinskih nadomestkov sira je vsebovala zanemarljivo količino beljakovin, v povprečju 0,4 g/100 g (preglednica 1). Vzorec, ki je vseboval največjo količino beljakovin (vzorec 3; 1,35 g/100 g) je vseboval grahove beljakovine. V ostalih vzorcih pa so vir beljakovin predstavljale moka iz boba, mleta sončnična semena in polnovredna prosena moka.

Preglednica 2: Vsebnost maščobnih kislin (MD %) v posameznih vzorcih rastlinskih nadomestkov sira

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$	Me	SD	Min	Max
C6:0	0,51 ±0,03	0,57 ±0,03	0,62 ±0,00	0,54 ±0,01	0,53 ±0,02	0,55 ±0,01	0,56 ±0,04	0,52 ±0,02	0,53 ±0,00	0,52 ±0,01	0,54	0,54	0,03	0,51	0,62
C8:0	7,20 ±0,17	7,71 ±0,16	7,67 ±0,01	7,50 ±0,14	7,78 ±0,18	7,49 ±0,06	7,43 ±0,23	7,50 ±0,11	7,16 ±0,01	7,26 ±0,02	7,47	7,49	0,21	7,16	7,78
C10:0	5,87 ±0,04	6,10 ±0,05	6,13 ±0,00	5,99 ±0,08	6,10 ±0,19	5,99 ±0,08	5,94 ±0,07	6,16 ±0,06	5,78 ±0,01	5,90 ±0,00	6,00	5,99	0,13	5,78	6,16
C12:0	46,77 ±0,04	46,94 ±0,10	46,20 ±0,01	46,77 ±0,13	45,38 ±0,18	46,81 ±0,39	46,68 ±0,10	46,35 ±0,11	45,66 ±0,02	46,75 ±0,02	46,43	46,72	0,53	45,38	46,94
C13:0	0,03 ±0,00	0,02 ±0,02	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03	0,03	0,00	0,02	0,03
C14:0	18,14 ±0,07	18,31 ±0,08	18,03 ±0,00	17,94 ±0,02	18,09 ±0,54	18,48 ±0,19	18,41 ±0,28	17,86 ±0,14	18,61 ±0,04	18,54 ±0,01	18,24	18,22	0,27	17,86	18,61
C16:0	9,31 ±0,04	9,02 ±0,12	9,34 ±0,00	9,14 ±0,09	9,14 ±0,30	9,33 ±0,28	9,42 ±0,08	9,38 ±0,10	9,82 ±0,01	9,38 ±0,00	9,33	9,33	0,22	9,02	9,82
C16:1	0,03 ±0,00	0,06 ±0,00	0,03 ±0,00	0,04 ±0,00	0,03 ±0,01	0,03 ±0,00	0,04 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,03	0,03	0,01	0,03	0,06
C18:0	2,70 ±0,01	2,74 ±0,00	2,72 ±0,00	2,60 ±0,02	2,86 ±0,16	2,66 ±0,04	2,72 ±0,02	2,87 ±0,03	2,89 ±0,00	3,00 ±0,00	2,78	2,73	0,12	2,60	3,00
C18:1	7,34 ±0,04	6,57 ±0,11	6,90 ±0,00	7,27 ±0,20	7,51 ±0,21	6,73 ±0,00	6,81 ±0,43	7,21 ±0,11	7,07 ±0,01	6,66 ±0,01	7,01	6,99	0,32	6,57	7,51
C18:2 n-6	1,85 ±0,02	1,68 ±0,00	2,05 ±0,01	1,92 ±0,02	2,05 ±0,17	1,66 ±0,02	1,71 ±0,03	1,81 ±0,03	2,15 ±0,01	1,69 ±0,00	1,86	1,83	0,18	1,66	2,15
C18:3 n-3	0,01 ±0,00	0,03 ±0,02	0,05 ±0,00	0,01 ±0,00	0,13 ±0,03	0,01 ±0,00	0,01 ±0,00	0,02 ±0,00	0,03 ±0,00	0,01 ±0,00	0,03	0,02	0,04	0,01	0,03
C20:0	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,08 ±0,00	0,10 ±0,00	0,08 ±0,00	0,08 ±0,00	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,09	0,09	0,00	0,08	0,10
C20:1 n-9	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,10 ±0,01	0,05 ±0,01	0,05 ±0,01	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,05 ±0,00	0,05	0,04	0,02	0,04	0,10
C22:0	0,02 ±0,00	0,04 ±0,03	0,02 ±0,00	0,02 ±0,00	0,05 ±0,00	0,02 ±0,00	0,02 ±0,00	0,02 ±0,00	0,02 ±0,00	0,02 ±0,00	0,03	0,02	0,01	0,02	0,05
C24:0	0,04 ±0,00	0,03 ±0,00	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,05 ±0,01	0,03 ±0,00	0,03 ±0,00	0,04 ±0,00	0,04 ±0,00	0,03 ±0,00	0,04	0,04	0,01	0,03	0,05
NMK	90,72 ±0,06	91,62 ±0,13	90,93 ±0,01	90,72 ±0,20	90,16 ±0,42	91,52 ±0,02	91,37 ±0,47	90,88 ±0,15	90,68 ±0,01	91,56 ±0,01	91,02	90,90	0,48	90,16	91,62
ENMK	7,41 ±0,14	6,67 ±0,11	6,97 ±0,00	7,35 ±0,20	7,65 ±0,23	6,81 ±0,00	6,90 ±0,43	7,29 ±0,12	7,14 ±0,02	6,74 ±0,01	7,09	7,06	0,33	6,67	7,65
VNMK	1,86 ±0,02	1,72 ±0,02	2,10 ±0,01	1,93 ±0,02	2,18 ±0,20	1,67 ±0,02	1,73 ±0,03	1,83 ±0,04	2,18 ±0,01	1,70 ±0,00	1,89	1,85	0,20	1,67	2,18
n-6 VNMK	1,85 ±0,02	1,68 ±0,00	2,05 ±0,01	1,92 ±0,02	2,05 ±0,17	1,66 ±0,02	1,71 ±0,03	1,81 ±0,03	2,15 ±0,01	1,69 ±0,00	1,86	1,83	0,18	1,66	2,15
n-3 VNMK	0,01 ±0,00	0,03 ±0,02	0,05 ±0,00	0,01 ±0,00	0,13 ±0,03	0,01 ±0,00	0,01 ±0,00	0,02 ±0,01	0,03 ±0,00	0,01 ±0,00	0,03	0,02	0,04	0,01	0,13
n-6/n-3	186 ±16	98 ±104	39 ±1	175 ±40	16 ±2	227 ±18	163 ±12	82 ±23	81 ±14	170 ±3	124	130	70	16	227
IA	13,9	15,4	14,1	13,8	12,9	15,3	15,1	13,9	13,9	15,4	14,4	14,0	0,9	12,9	15,4
IT	6,5	7,0	6,4	6,4	5,7	7,1	7,0	6,5	6,6	7,3	6,7	6,6	0,5	5,7	7,3

NMK: nasičene maščobne kisline; ENMK: enkrat nenasičene maščobne kisline; VNMK: večkrat nenasičene maščobne kisline; IA: indeks aterogenosti, IT: indeks trombogenosti; n-6/n-3: razmerje med n-6 VNMK/n-3 VNMK; rezultati so predstavljeni kot $\bar{x} \pm SD$

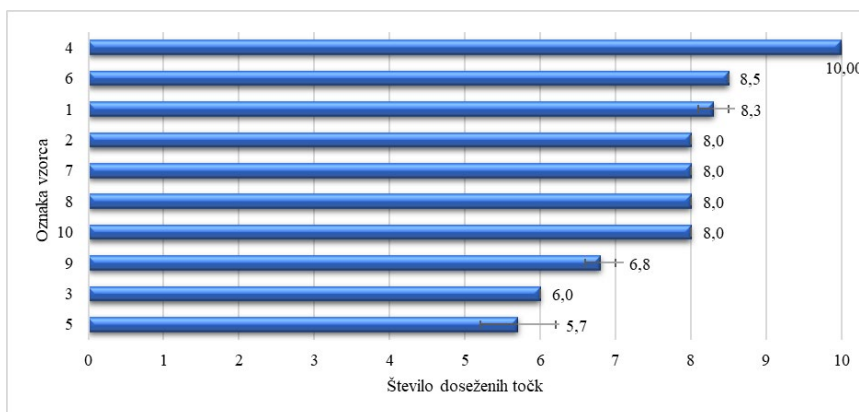
Vsebnost soli v analiziranih vzorcih rastlinskih nadomestkov sira je bila različna - med 1,44 g do 2,24 g/100 g (preglednica 1). Kar devet vzorcev je vsebovalo več kot 1,5 g soli/100 g. Soljenje je pomembna faza v tehnološkem postopku večine vrst sira, saj ima sol pomembno vlogo pri konzerviranju in oblikovanju senzoričnih

lastnosti (sol pomaga pri nastajanju skorjice, usmerja procese zorenja, sodeluje pri oblikovanju okusa in podaljšuje obstojnost sira). Medtem ko je sol v proizvodnji sira tehnološko neizogibna (Guinee in Fox, 2017), pa na podlagi rezultatov kemijske analize lahko sklepamo, da velika vsebnost soli v rastlinskih nadomestkih sira najverjetneje služi kot »ojačevalec okusa«, ki prikrije morebitne druge arome, ki bi lahko bile potrošnikom manj všečne. Vzorci z oznako 3, 5 in 9, ki so vsebovali manj soli, so bili tudi senzorično slabše ocenjeni (slika 1). Tekstura navedenih vzorcev je bila plastična in drobljiva, občutek v ustih pa prazen in pust.

Večina rastlinskih nadomestkov sira je vsebovala zelo malo kalcija - med 6,25 mg in 23,10 mg/100 g (preglednica 1). Izjemi sta bila vzorca 1 in 3, ki sta vsebovala 604,30 mg oz. 225,72 mg kalcija/100 g. Vzorec 1 je bil edini, ki je imel dodan trikalcijev citrat, kar je bilo označeno tudi na označbi. K večji vsebnosti kalcija v vzorcu 3 pa je verjetno prispevala ena izmed sestavin (kurkuma). Kljub večji vsebnosti kalcija v nekaterih vzorcih, pa je pri rastlinskih nadomestkih sira vprašljiva biološka izkoristljivost kalcija.

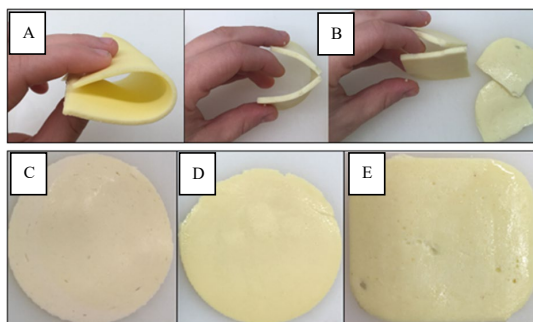
3.3 SENZORIČNA KAKOVOST RASTLINSKIH NADOMESTKOV SIRA

Senzorično kakovost rastlinskih nadomestkov sira smo ocenili s sistemom 10 točk. Slika 1 prikazuje rastlinske nadomestke sira, razvrščene od najboljše do najslabše ocenjene senzorične kakovosti glede na doseženo vsoto točk.



Slika 1: Senzorična ocena kakovosti rastlinskih nadomestkov sira

Le vzorec 4 je bil ocenjen z najboljšo oceno 10 točk. Sledita vzorec 6 in vzorec 1 s podobno senzorično oceno (povprečna ocena vzorca 6 je bila 8,5 točk in vzorca 1 8,3 točke). Štirje vzorci so bili ocenjeni z 8,0 točkami. Sledita vzorec 9 s povprečno oceno 6,8 in vzorec 3 s povprečno oceno 6,0. Vzorec 5 pa je bil ocenjen z najnižjim povprečnim številom točk (5,6 točk), kar pomeni najslabše ocenjeno senzorično kakovost med analiziranimi rastlinskimi nadomestki sira. Tekstura je bila v primerjavi z najbolje ocenjenim vzorcem zelo lomljiva oz. drobljiva (slika 2B), v ustih pa peskasta. Na prerezu vzorca 5 so bili vidni zračni mehurčki (slika 2E).



Slika 2: Senzorična ocena kakovosti rastlinskih nadomestkov sira; A: vzorec 4 z najvišjo senzorično oceno – prožno, B: vzorec 5 – zelo lomljivo, drobljivo; C, D in E – izgled nekaterih rastlinskih nadomestkov sira

Glavna razlika med rastlinskimi nadomestki sira in poltrdimi siri je bila odsotnost očes na prerezu, kar je značilno za to skupino sirov. Najpogostejše senzorične napake, ki so bile zaznane pri večini rastlinskih nadomestkih sira, so bile lomljiva oz. drobljiva, peskasta in žilava struktura, neharmoničen, oljav/maščoben in slan okus, tuj vonj ter blede, svetla barva. Rastlinski nadomestki sira težko dosežejo takšne senzorične lastnosti kot jih ima običajen poltrdi tip sira, vendar pa je senzorična kakovost v kategoriji teh izdelkov sprejemljiva. Potrošniki bi sicer glede na označbo lahko pričakovali primerljive senzorične lastnosti kot pri običajnih poltrdih siri.

3.3 PRIMERJAVA HRANILNE VREDNOSTI RASTLINSKIH NADOMESTKOV SIRA S POLTRDIM SIROM

Potrošniki bi pri rastlinskih nadomestkih sira lahko pričakovali, da imajo le-ti podobno hranilno vrednost kot je značilna za običajen poltrdi tip sira. Zato smo primerjali mediano hranilne vrednosti analiziranih rastlinskih nadomestkov sira s tremi različnimi poltrdimi siri, ki so se razlikovali po vsebnosti maščobe v suhi snovi (SS):

- polmastni sir edamec (30 % maščob v SS);
- tričetrt mastni sir edamec (40 % maščob v SS);
- mastni sir gavda (45 % maščob v SS) (Souci in sod., 2000).

Hranilne vrednosti izbranih poltrdih sirov, s katerimi smo primerjali povprečno hranilno vrednost rastlinskih nadomestkov sira, so zelo podobne.

Iz preglednice 3 je razvidno, da je med hranilno vrednostjo rastlinskih nadomestkov sira in hranilno vrednostjo izbranih poltrdih sirov statistično značilna razlika. Medtem ko sir uvrščamo med beljakovinska živila z bogato mineralno sestavo, smo v naši raziskavi ugotovili, da rastlinskih nadomestkov sira ne moremo uvrstiti v isto skupino. Rastlinski nadomestki sira so vsebovali le 0,13 g beljakovin in 0,02 g kalcija na 100 g (vrednost mediane), medtem ko so izbrani poltrdi siri vsebovali 25,6 g beljakovin in 0,80 g kalcija na 100 g (vrednost mediane). Statistično značilna razlika je bila potrjena tudi pri vsebnosti soli. Izbrani poltrdi siri so vsebovali 1,30 g soli/100 g, medtem ko so rastlinski nadomestki sira, če upoštevamo vrednosti mediane, imeli 58 % več soli (2,06 g/100 g). Kronične nenalezljive bolezni, ki so med drugim tudi posledica previsokega vnosa soli, povzročijo več kot 70 % smrti na svetovni ravni (McLean in sod., 2019). Z namenom preprečevanja in obvladovanja teh bolezni je Svetovna zdravstvena organizacija v Akcijskem načrtu za zmanjševanje kroničnih nenalezljivih bolezni postavila svetovni cilj zmanjšanja soli v prehrani za 30 % do leta 2025 (WHO, 2013). Svetovna zdravstvena organizacija je za odraslo prebivalstvo postavila zgornjo mejo za vnos natrija oz. soli (<2000 mg Na/dan oz. 5 g soli/dan), ki še ne ogroža zdravja (WHO, 2012). Temu priporočilu sledi tudi Slovenija.

V vsebnosti celokupne količine maščob med rastlinskimi nadomestki sira in izbranimi poltrdimi siri statistično značilne razlike nismo potrdili ($p = 0,6726$).

Preglednica 3: Primerjava mediane hranilne vrednosti 10 analiziranih rastlinskih nadomestkov* (g/100 g) s tremi različnimi poltrdimi siri, ki se razlikujejo po vsebnosti maščobe v suhi snovi (g/100 g)

	Rastlinski nadomestki sira* (N=10)	Poltrdi siri** (N=3)	
	Mediana (min - max)	Mediana (min - max)	p-vrednost
Suha snov	49,0 (41,2 – 54,0)	54,0 (50,9 – 55,2)	0,0519
Beljakovine	0,13 (0,05 – 1,35)	25,6 (25,0 – 25,9)	< 0,05
Celokupna maščoba	21,3 (18,6 – 24,4)	23,4 (16,2 – 25,4)	0,6726
Sol	2,06 (1,44 – 2,24)	1,30 (1,30 – 1,30)	< 0,05
Kalcij	0,02 (0,01 – 0,60)	0,80 (0,80 – 0,80)	< 0,05

* rastlinski nadomestki sira so v povprečju vsebovali 41 % maščob v suhi snovi.

** Siri: gavda (45 % maščob v SS), Edamec (40 % maščob v SS) in Edamec (30 % maščob v SS)

Statistično značilna razlika, p -vrednost < 0,05.

Pri vrednotenju prehranske ustreznosti živil je, poleg količine maščob, pomembna tudi njena sestava. Vnos določenih maščobnih kislin ima namreč večjo vlogo pri razvoju kroničnih bolezni kot vnos skupnih maščob. Glede

na to, da so rastlinski nadomestki sira v povprečju vsebovali 41 % maščob v suhi snovi, kar jih glede na klasično razdelitev sirov po odstotku maščobe v suhi snovi uvršča v skupino tričetr mastnih izdelkov, smo za primerjavo izbrali gavdo in edamca s 45 % maščob v suhi snovi.

Povprečna maščobnokislinska sestava rastlinskega nadomestka sira je bila zelo različna od izbranih dveh poltrdih sirov (preglednica 4). Maščoba v rastlinskih nadomestkih sira je bila večinoma sestavljena iz nasičenih maščobnih kislin, saj je bil povprečni delež le-teh kar 91 %. Preostalih 9 % pa so predstavljale enkrat nenasičene maščobne kisline (7 %) in večkrat nenasičene maščobne kisline (le 2 %). Izbrana poltrda sira imata podobno maščobnokislinsko sestavo, in sicer je delež nasičenih maščobnih kislin več kot 1,5 x nižji v primerjavi z rastlinskim nadomestkom sira, delež enkrat in večkrat nenasičenih maščobnih kislin pa je višji (ENMK 5 x višji, delež VNMK pa 3 x višji).

Preglednica 4: Primerjava vsebnosti posameznih maščobnih kislin (% MD) v rastlinskem nadomestku sira, edamcu in gavdi

	Rastlinski nadomestki sira (N=10)	Poltrdi tipi sira** (N=2)	
	Mediana (min - max)	Mediana (min - max)	p-vrednost
C12:0	46,7 (45,4 – 46,7)	2,14 (2,03 – 2,24)	< 0,05
C14:0	18,2 (17,9 – 18,6)	9,14 (8,87 – 9,41)	< 0,05
C16:0	9,33 (9,02 – 9,82)	28,2 (27,9 – 28,4)	< 0,05
C18:0	2,73 (2,60 – 3,00)	14,7 (14,5 – 14,9)	< 0,05
C18:1	6,99 (6,57 – 7,51)	30,8 (30,3 – 31,2)	< 0,05
C18:2 n-6	1,83 (1,66 – 2,15)	2,42 (2,40 – 2,43)	< 0,05
C18:3 n-3	0,02 (0,01 – 0,13)	0,96 (0,95 – 0,97)	< 0,05
NMK	91,0 (90,2 – 91,6)	57,1 (56,6 – 57,5)	< 0,05
ENMK	7,06 (6,67 – 7,65)	33,9 (33,5 – 34,3)	< 0,05
VNMK	1,85 (1,67 – 2,18)	5,69 (5,64 – 5,74)	< 0,05
n-6 VNMK	1,83 (1,66 – 2,15)	2,85 (2,82 – 2,87)	< 0,05
n-3 VNMK	0,02 (0,01 – 0,13)	0,96 (0,95 – 0,97)	< 0,05
Razmerje n-6/n-3 VNMK	130 (16,1 – 227)	2,95 (2,88 – 3,03)	< 0,05

* povprečna vsebnost maščobnih kislin v vseh analiziranih vzorcih rastlinskih nadomestkov sira (v povprečju 41 % maščob v SS)

** povprečna vsebnost maščobnih kislin v edamcu (45 % maščob v SS) in gavdi (45 % maščob v SS)

Statistično značilna razlika, p-vrednost < 0,05.

Tako pri rastlinskem nadomestku sira, kot tudi pri poltrdih tipih sira prevladujejo nasičene maščobne kisline. Toda, če pogledamo podrobnejšo sestavo (preglednica 4), je bil delež posameznih maščobnih kislin v rastlinskem nadomestku sira popolnoma drugačen od tistih v izbranih poltrdih sirih. Skoraj polovico nasičenih maščobnih kislin je v rastlinskem nadomestku sira predstavljala lavrinska maščobna kislina (47 %), medtem ko je delež le-te v izbranih poltrdih sirih le 2 %. Delež miristinske maščobne kisline v rastlinskem nadomestku sira (19 %) je bil, v primerjavi z deležem v izbranih poltrdih sirih, še enkrat višji. Delež palmitinske in stearinske maščobne kisline je bil v rastlinskem nadomestku sira majhen (skupno le 12 %), medtem ko sta ti dve maščobni kislini v izbranih poltrdih sirih zastopani v najvišjem deležu (delež palmitinske maščobne kisline je 28 %, stearinske maščobne kisline pa 15 %). Posamezne nasičene maščobne kisline imajo različen učinek na koncentracijo lipoproteinskih frakcij v plazmi. Lavrinska, miristinska in palmitinska maščobna kislina delujejo aterogeno, saj zvišujejo konc. LDL in skupnega holesterola, posledično tudi tveganje za srčno-žilne bolezni, medtem ko stearinska maščobna kislina nima takšnega učinka (FAO, 2010).

Edamec oz. gavda s 45 % maščob v SS vsebujeta 30 % oleinske maščobne kisline, medtem ko je rastlinski nadomestek sira vseboval le 7 %. Oleinska maščobna kislina deluje antiaterogeno, saj zvišuje koncentracijo holesterola HDL v krvi in nekoliko znižuje koncentracijo holesterola LDL. Prepričljivi so tudi dokazi, da zamenjava nasičenih maščobnih kislin (C12:0 – C16:0) z oleinsko kislino zmanjša LDL in skupni holesterol (FAO, 2010). Med večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami, ki sta bili v rastlinskih nadomestkih sira zastopani

le v 2 %, sta pomembnejši predstavnici linolna (n-6) in α -linolenska maščobna kislina (n-3), ki sta za človeka esencialni. Kot prikazuje preglednica 3, rastlinski nadomestek sira ni bogat vir esencialnih maščobnih kislin. Linolna in α -linolenska maščobna kislina sta prekursorski molekuli za dolgoverižne večkrat nenasičene maščobne kisline n-6 in n-3 vrste. Le-te pa so pomembne za izgradnjo in normalno funkcioniranje celičnih membran, kot transkripcijski faktor in kot prekursorske molekule tkivnih hormonov (eikozanoidov), ki regulirajo vnetne procese, zlepljanje trombocitov in strjevanje krvi, permeabilnost kapilar, kontraktibilnost gladkih mišičnih vlaken, imunski sistem in izločanje hormonov (Saunders in sod., 2013). Vendar pa je ta sinteza omejena in odvisna od oskrbe z esencialnimi maščobnimi kislinami in od razmerja v njunem vnosu. V zadnjih desetletjih se je zahodna prehrana izrazito spremenila, kar se kaže tudi v zmanjšanem vnosu n-3 maščobnih kislin in povečanem vnosu n-6 maščobnih kislin. Posledično je ocenjeno razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami 15-20:1, kar je v nasprotju z ciljnim razmerjem okrog 5:1 oz. nekateri avtorji navajajo celo ožje razmerje, kot je 2:1 (Søborg Husted in Bouzinova, 2016). Razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami v rastlinskih nadomestkih je bilo različno – najvišje 227:1 in najnižje 16:1 (preglednica 4). Porušeno razmerje (v prid n-6 maščobnih kislin) je povezano z večjim tveganjem za nastanek srčno-žilnih bolezni, nekaterih oblik raka, sladkorno bolezen tipa 2, osteoporozo, imunske in vnetne motnje (Saunders in sod., 2013). Razmerje med linolno (n-6) in α -linolensko kislino (n-3) v izbranih poltrdih sirih je idealno, medtem ko je v rastlinskih nadomestkih sira precej odstopalo od ciljnega razmerja. Razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami je bilo v povprečju 130:1, kar pomeni, da bi obrok morali dopolniti z živilom, ki ima višjo vsebnost n-3 (večkrat) nenasičenih maščobnih kislin (različna semena – chia, konoplina, lanena, različna olja – konoplino, laneno, pšenični kalčki, ribe – losos, tuna, šarenka, potočna postrv, mikroalge, živila obogatena z n-3 maščobnimi kislinami, prehranska dopolnila) oz. živilom, ki ima bolj idealno razmerje (orehi, orehovo olje) (Saunders in sod., 2013).

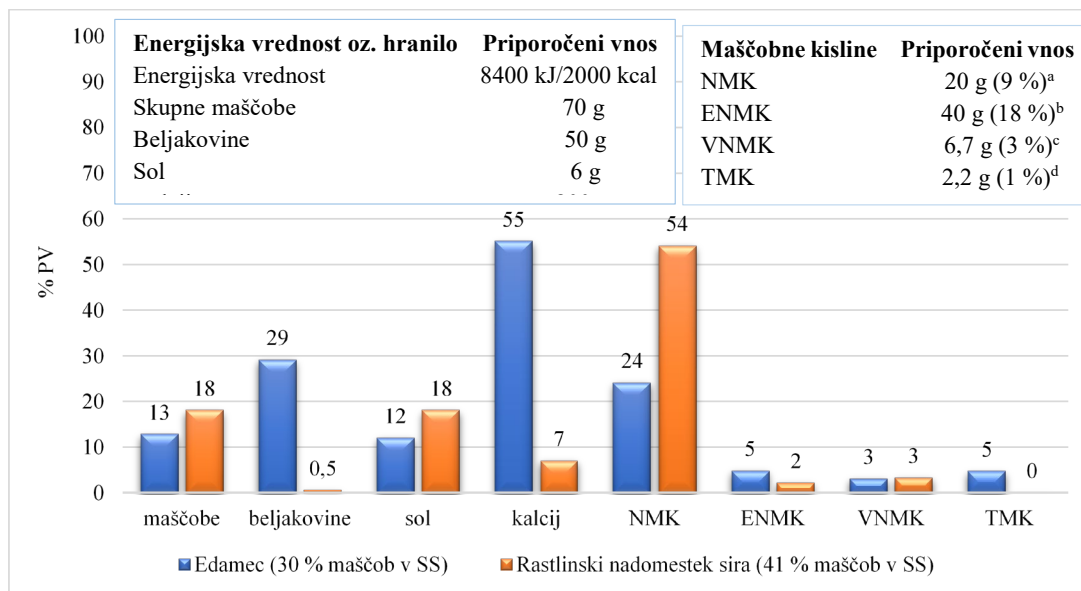
Trans maščobnih kislin (TMK) s kemijskimi analizami nismo določili, saj smo glede na to, da gre za živila rastlinskega izvora in da na označbi ni bilo navedenih delno hidrogeniranih rastlinskih olj sklepali, da vzorci rastlinskih nadomestkov sira ne vsebujejo trans maščobnih kislin. Nasprotno, pa trans maščobne kisline v siru predstavljajo približno 5 % vseh maščobnih kislin, ki so posledica mikrobnega metabolizma v vampu prežvekovalcev (Verruck in sod., 2019; Jerónimo in Malcata 2016).

Prehransko manj ugodno maščobnokislinsko sestavo vzorcev rastlinskih nadomestkov sira lahko dodatno podkrepimo še z indeksom aterogenosti (IA) in indeksom trombogenosti (IT). IA je bil pri vzorcih rastlinskih nadomestkov sira med 12,9 in 15,4, medtem ko so bile vrednosti IT med 5,7 in 7,3 (preglednica 2). Kljub vsebnosti trans maščobnih kislin v običajnem poltrdem siru, ki imajo podoben aterogen oz. trombogen potencial kot nasičene maščobne kisline, je IA in IT mnogo manjši. Za primerjavo, običajen poltrdi tip sira – gavda oz. edamec s 45 % maščobe v suhi snovi (SS) – ima IA 1,7 oz. 1,6, IT pa 1,9 oz. 1,8 (Koman Rajšp in Stibilj, 2000). Glede na visok IA in IT vzorcev rastlinskih nadomestkov sira, so tovrstni izdelki prehransko manj ustrezni, saj imajo zaradi maščobnokislinske sestave večjo težnjo po odlaganju maščob na stene žil in pospeševanju nastanka krvnih strdkov. Učinek je še bolj izrazit v primeru, ko so tovrstni izdelki del neuravnotežene prehrane, v katero je vključenih premalo živil z ugodnejšo maščobnokislinsko sestavo in živil, ki so vir esencialnih VNMK.

3.4 PRIMERJAVA Odstotka priporočenega vnosa mikro- in makrohranil ter maščobnih kislin v primeru zaužitja priporočene količine sira oz. rastlinskega nadomestka sira

Zanimalo nas je, kakšen odstotek priporočenega vnosa (% PV) skupnih maščob, beljakovin, soli in kalcija bi pokrila povprečna odrasla oseba, če bi zaužila med 50 in 60 g sira (po priporočilih nemškega prehranskega društva) oz. enako količino rastlinskega nadomestka sira. Ker ima vnos določenih maščobnih kislin večjo vlogo pri razvoju kroničnih bolezni kot vnos skupnih maščob, nas je zanimal tudi odstotek priporočenega vnosa NMK, ENMK, VNMK in TMK. Glede na to, da Smernice zdravega prehranjevanja priporočajo vključevanje manj mastnih sirov v prehrano, smo za primerjavo vzeli polmastni sir edamec s 30 % maščob v suhi snovi. Podatke o hranilni in maščobnokislinski sestavi edamca smo vzeli iz prehranskih tabel (Souci in sod., 2000).

Če bi enako količino sira (55 g) nadomestili z rastlinskim nadomestkom sira, bi bil odstotek s katerim bi povprečna odrasla oseba pokrila priporočen vnos (PV) beljakovin in kalcija precej nižji, odstotek priporočenega vnosa soli in skupnih maščob pa višji (slika 3). Z rastlinskim nadomestkom sira bi povprečna odrasla oseba pokrila le 0,5 % priporočenega vnosa beljakovin in 7 % priporočenega vnosa kalcija ter 18 % priporočenega vnosa skupnih maščob in soli. Če upoštevamo vrednosti mediane, bi z rastlinskim nadomestkom sira pokrili celo nižji odstotek priporočene vrednosti (zanemarljivo - beljakovine 0,1 % PV in kalcij 1 % PV).



Slika 3: Odstotek PV za posamezna hranila in posamezno skupino maščobnih kislin pri zaužitju 55 g rastlinskega nadomestka sira in polmastnega sira edamca s 30 % maščobe v SS (priporočeni dnevni vnosi energije in izbranih hranil za odrasle iz ^aUredbe št. 1169/2011, Priloga XIII, del A in del B; ^bizračunan – skupne maščobe [% E] – NMK [% E] – VNMK [% E] – TMK [% E], ^cDGE, 2020, ^dFAO, 2010)

Povprečna odrasla oseba bi s 55 g manj mastnega sira pokrila slabo četrtino (24 %) priporočenega vnosa NMK, 5 % priporočenega vnosa ENMK in TMK, ter 3 % priporočenega vnosa n-3 in n-6 esencialnih maščobnih kislin (VNMK). Kljub temu, da z rastlinskimi nadomestki sira ne zaužijemo trans maščobnih kislin, bi vseeno povprečna odrasla oseba pokrila več kot polovico (54 %) priporočenega vnosa NMK, le 2 % priporočenega vnosa ENMK in enak odstotek esencialnih maščobnih kislin kot z manj mastnim sirom (slika 3).

4 ZAKLJUČEK

V naši raziskavi smo s kemijsko in senzorično analizo določili kakovost rastlinskih nadomestkov sira z oznako »klasič« ali »original«, ki smo jih kupili na slovenskem trgu. Rezultati so pokazali, da imajo rastlinski nadomestki sira prehransko manj ugodno hranilno sestavo in povprečno senzorično kakovost. V nasprotju z nekaterimi prehranskimi smernicami, ki trdijo, da rastlinski nadomestki lahko nadomestijo sir, naše ugotovitve kažejo, da takšna zamenjava v prehrani ni priporočljiva. Rastlinski nadomestki sira namreč vsebujejo zanemarljivo količino beljakovin in kalcija ter več soli kot običajni poltrdi siri. Glede na to, da je bila glavna sestavina kokosova maščoba v vseh analiziranih vzorcih, ni bilo presenetljivo, da so ti nadomestki vsebovali največji delež nasičenih maščob, kar je povezano z večjim tveganjem za nastanek srčno-žilnih bolezni. Za enako količino rastlinskih nadomestkov sira morajo potrošniki odšteti več denarja kot za poltrdi sir, zato bi morda nadomestke sira nekateri potrošniki lahko šteli za "bolj zdrave" alternative siru. Z našo raziskavo smo pokazali, da rastlinski nadomestki sira hranilno in senzorično ne morejo nadomestiti poltrdega sira. Slovenski trg trenutno ponuja rastlinske nadomestke sira, ki jih lahko zaradi dolgega seznama sestavin, med katerimi so poleg

solí našetí še številni aditivi (škrobi, barvila, gostila, antioksidanti, konzervansi) in arome, uvrstimo med visoko predelana živila, ki pa so v prehrani zaradi hranilne neuravnoteženosti in osiromašenosti manj zaželena. Razvoj tovrstnih izdelkov bi bilo smiselno usmeriti v uporabo kakovostnih surovin, ki bi vplivale na bolj ugodno hranilno sestavo.

5 VIRI

- DGE. 2020. Fett. Bonn, Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V.: 2 str., <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/fett/?L=> (junij 2020)
- FAO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: 180 str., <http://www.fao.org/3/a-i1953e.pdf> (avgust 2020)
- Forgrieve J. 2018. The growing acceptance of veganism. Washington, Forbes: 1 str. <https://www.forbes.com/sites/janetforgrieve/2018/11/02/picturing-a-kindler-gentler-world-vegan-month/#2d95d3eb2f2b> (marec 2020)
- Grossmann L., McClements D.J. 2021. The science of plant-based foods: Approaches to create nutritious and sustainable plant-based cheese analogs. Trends in Food Science and Technology, 118: 207-229
- Guinee, T.P.; Fox, P.F. 2017. Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. V: Cheese—Chemistry, Physics & Microbiology, 4th ed. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (ur.). Academic Press: Cambridge, MA, USA: 317–375.
- ISO 22935-2. Milk and milk products — Sensory analysis — Part 2: Recommended methods for sensory evaluation. 2009: 23 str.
- ISO 22935-3 Milk and milk products — Sensory analysis — Part 3: Guidance on a method for evaluation of compliance with product specifications for sensory properties by scoring. 2009: 7 str.
- Jerónimo E., Malcata F.X. 2016. Cheese: composition and health effects. V: Encyclopedia of food and health. Caballero B., Finglas P.M., Toldrá F. (ur.). E-Publishing Inc.: Chicago, IL, USA, 2016; 741 – 747
- KTMVŽ in FOSS. 2019. Navodila za določanje vsebnosti maščob: interno gradivo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za tehnologijo mesa in vrednotenje živil, FOSS: 2 str
- Koman Rajšp M., Stibilj V. 2000. Fatty acid composition of edam, emmental and gouda cheeses produced in Slovenia in autumn 1997. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo. Zootehnika, 76, 2: 95-101
- Manuelian C.L., Currò S., Penasa M., Cassandro M., De Marchi M. 2017. Characterization of major and trace minerals, fatty acid composition, and cholesterol content of protected designation of origin cheeses. Journal of Dairy Science, 100, 5: 3384–3395
- Mäkinen O.E., Wanhalinna V., Zannini E., Arendt E.K. 2016. Foods for special dietary needs: non-dairy plant-based milk substitutes and fermented dairy-type products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56, 3: 339-349
- Market Research Future. 2020. Plant-based food market research report - global forecast till 2025. Maharashtra, Market Research Future: 5 str., <https://www.marketresearchfuture.com/reports/plant-based-food-market-8578> (marec 2020)
- Market Research Future. 2024. Global Non-Dairy Cheese Market Overview. <https://www.marketresearchfuture.com/reports/non-dairy-cheese-market-3114> (januar 2024)
- McLean B.A.R.M., Petersen K.S., Arcand J., Malta D., Rae S., Thout S.R., Trieu K., Johnson C., Cambell N.R.C. 2019. Science of salt: a regularly updated systematic review of salt and health outcomes studies (April to October 2018). Journal of Clinical Hypertension, 21: 1030-1042
- Park P.W., Goins R.E. 1994. *In situ* preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. Journal of Food Science, 59, 6: 1262-1266
- Plestenjak A., Golob T. 2003. Analiza kakovosti živil. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 13-14, 91-99
- Saunders A.V., Davis B.C., Garg M.L. 2013. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and vegetarian diets. Medical Journal of Australia, 199: 22-26
- Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. 2000. Food composition and nutrition tables. Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers: 86-103
- Søborg Husted K., Bouzinova E.V. 2016. The importance of n-6/n-3 fatty acids ratio in the major depressive disorder. Medicina, 52: 139-147

- Uredba (EU) št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom. Uradni list Evropske unije, L 304: 18-63
- Verruck S., Balthazar C. F., Rocha R.S., Silva R., Esmerino E.A., Pimentel T.C., Freitas M.Q., Silva M.C., da Cruz A.G., Prudencio E.S. 2019. Dairy foods and positive impact on the consumer's health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 89: 1043-4526
- WHO. 2012. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva, World Health Organization: 56 str., https://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf (december 2019)
- WHO. 2013. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. Geneva, World Health Organization: 55 str., https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236_eng.pdf;jsessionid=E117A439EE79A9EBD7467E292C323BA2?sequence=1 (november 2019)

VABLJENO PREDAVANJE

PROCESIRANJE ŽIT IN STROČNIC ZA PROIZVODNJO RASTLINSKIH BELJAKOVINPetra TERPINC¹, Tomaž POŽRL² in Andrej ŽIVKOVIČ³

Povzetek: Svetovno povpraševanje po beljakovinah rastlinskega izvora se povečuje zaradi želje po trajnostni proizvodnji hrane, skrbi za okolje in zdravje ljudi. Glavni viri rastlinskih beljakovin vključujejo žita, stročnice, oreščke, oljnice in psevdožita. Vpeljanih je več inovativnih tehnologij predelave rastlinskih surovin za povečanje učinkovitosti ekstrakcije in čistosti beljakovin, prihodnost pa se kaže v kombinaciji različnih tehnik. Do sedaj so bile izvedene številne študije, ki so ovrednotile funkcionalnost rastlinskih beljakovin: topnost, sposobnost vezave vode in olja ter zmožnost tvorbe pene, emulzij in gelov. Omenjene lastnosti igrajo ključno vlogo pri razvoju živil na osnovi rastlinskih beljakovin, kot so mesni analogi in ekstrudirani izdelki, pijače, emulzije, pekovski izdelki, dodatki športni prehrani itd. Izzivi povezani z vključevanjem rastlinskih beljakovin v živilske izdelke vključujejo še neuravnoteženo aminokislinsko sestavo, slabšo prebavljivost, prisotnost antinutritivnih snovi, alergenov ter nezaželenih arom. Modifikacija rastlinskih beljakovin s spreminjanjem njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti omogoča izboljšanje njihove tehnološke funkcionalnosti ter tako širi področja njihove uporabe.

Ključne besede: beljakovine, rastlinski viri, ekstrakcija, izolacija, modifikacija, funkcionalne lastnosti, uporaba v živilih, izzivi

PROCESSING OF CEREALS AND LEGUMES FOR THE PRODUCTION OF VEGETABLE PROTEINS

Abstract: The global demand for plant proteins is increasing due to the desire for sustainable food production, protection of the environment and human health. The main sources of plant proteins include cereals, pulses, nuts, oilseeds and pseudocereals. Several innovative technologies for processing plant-based raw materials have been introduced to increase extraction efficiency and protein purity, and the future is seen in combining different techniques. To date, numerous studies have been conducted to evaluate the functionality of plant proteins: solubility, water and oil binding capacity, as well as the ability to form foams, emulsions and gels. These properties play a key role in the development of plant-based foods, such as meat analogues and extruded products, beverages, emulsions, bakery products, sports nutrition supplements, etc. Challenges associated with the use of plant proteins in foods include unbalanced amino acid composition, poor digestibility, the presence of antinutritive substances, allergens and undesirable flavours. The modification of plant proteins by changing their physico-chemical properties enables an improvement of their technological functionality and thus an expansion of their application areas.

Keywords: proteins, plant sources, extraction, isolation, modification, functional properties, food applications, challenges

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

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

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

1 UVOD

Hrana rastlinskega izvora predstavlja najpomembnejši vir energije in prehransko pomembnih snovi za zagotavljanje vzdržnih in trajnostnih bivanjskih pogojev naraščajočega števila svetovnega prebivalstva v naslednjih desetletjih (Kraak in Aschemann-Witzel, 2024). Razlogov za uveljavljanje različnih vrst prehranskih vzorcev, ki so v večji meri ali popolnoma sestavljeni iz surovin ali izdelkov rastlinskega izvora, je več; med najpomembnejše spada doseganje trajnostnih načinov prehranjevanja oz. vzpostavitev prehranskih sistemov, ki bodo zagotovili načela uravnoteženja na področjih zdravja ljudi, ekološke ustreznosti, gospodarske blaginje in socialne pravičnosti (Kraak in Consavage Stanley, 2023).

Izjemno pomemben vidik zagotavljanja trajnostnih prehranskih vzorcev je identifikacija potencialnih virov beljakovin. Kot alternativne beljakovinske vire lahko definiramo vse beljakovinske frakcije, pridobljene iz rastlin, alg, gliv, žuželk ali živalskih celic, ki so v uporabi za nadomestitev običajnih živalskih virov kot so govedina, svinjina, perutnina, ribe, morski sadeži, jajca in mlečni izdelki (Bedsaul-Fryer in sod., 2024).

Uveljavljanje predvsem rastlinskih nadomestkov živalskih beljakovin je v zadnjem času spodbudilo mnoge avtorje, da so pripravili primerjave različnih lastnosti omenjenih skupin beljakovin, med katerimi so izpostavili predvsem prehranske in tehnološke lastnosti (Mariotti, 2019), pomemben vidik pa predstavlja tudi primerjava ekonomskih in okoljskih vplivov proizvodnje posameznih beljakovinskih virov (Day in sod., 2022; Merlo in sod., 2024).

V raziskavi, ki je bila regijsko omejena (Republika Irska), so poskušali ovrednotiti vpliv prireje oz. pridelave mlečnih, mesnih (goveje in ovčje meso) in rastlinskih beljakovin (žita in stročnice) na okoljske in ekonomske parametre. Generalno so rezultati pokazali, da so negativni vplivi na okolje (emisije toplogrednih plinov) občutno najmanjši pri pridelavi rastlinskih beljakovin. Ekonomska uspešnost je bila najboljša pri mlečni proizvodnji, čeprav so na rezultate vplivali različni dejavniki (npr. državna kmetijska politika). Količina pridelanih beljakovin na enoto površine je bila največja pri rastlinskih surovinah, še posebej pri stročnicah (Merlo in sod., 2024).

1.1 PRIMERJAVA RASTLINSKIH BELJAKOVIN Z ŽIVALSKIMI

Beljakovine v človeški prehrani se razlikujejo po kemijskih, bioloških, funkcionalnih in prehranskih lastnostih v odvisnosti predvsem od vira in strukture. Generalno imajo živalske beljakovine boljše prehranske lastnosti kot rastlinske (boljša aminokislinska sestava, prebavljivost, sposobnost prenosa drugih pomembnih hranil kot so npr. kalcij in železo). K temu prispeva predvsem primanjkljaj nekaterih esencialnih aminokislin (AK) (npr. lizin) in počasna oz. omejena prebavljivost. Mlečnim beljakovinam pripisujejo velik pomen pri zagotavljanju ustrezne preskrbe hranil za otroke. Poleg tega je večina funkcionalnih lastnosti živalskih beljakovin (npr. sposobnost želiranja, emulgiranja in penjenja), ki so pomembne za teksturne oz. senzorične lastnosti živil, primerljivih ali boljših od rastlinskih (Day in sod., 2022). Med najpomembnejše prehranske dejavnike, ki so pomembni pri vrednotenju kakovosti različnih virov beljakovin, uvrščamo vsebnost beljakovin v viru, prebavljivost beljakovin in vsebnost esencialnih aminokislin. Živalski in rastlinski viri se načeloma zelo razlikujejo glede na vsebnost beljakovin, pri čemer imajo nekateri nepredelani rastlinski viri (predvsem stročnice) občutno večjo vsebnost od nepredelanih živalskih surovin (npr. meso), vendar lahko različni načini predelave vsebnost beljakovin občutno spremenijo. Prebavljivost beljakovin nam pove, kako dobro lahko človek ali žival prebavi beljakovine in absorbira aminokislino. Za vrednotenje prebavljivosti so v uporabi različne metode, generalno pa naj bi bile rastlinske beljakovine slabše prebavljive, saj imajo zaradi skladiščne vloge v rastlinah zelo kompaktno molekularno strukturo (zaradi strukturnih razlik so rastlinske beljakovine bolj odporne na encimsko hidrolizo). Poleg tega naj bi k slabši prebavljivosti prispeval delež vlaknin in antinutritivnih faktorjev, ki jih vsebujejo rastlinske beljakovine (Kumar in sod., 2022). Tudi aminokislinska sestava oz. vsebnost esencialnih aminokislin je izjemno raznolika (Preglednica 1), saj so opazne razlike med živalskimi in rastlinskimi beljakovinami in tudi med različnimi skupinami rastlinskih beljakovin. Sojine beljakovine so podobno kot živalske beljakovine dober vir vseh esencialnih aminokislin. Najbolj izpostavljena je manjša vsebnost lizina in treonina v rastlinah (še posebej v žitnih

beljakovinah), manj je tudi triptofana. V stročnicah so določili manjše vsebnosti žveplo vsebujočih aminokislin metionina in cisteina. Nekatera žita naj bi bila tudi slabši vir levcina (Day in sod., 2022).

Preglednica 1: Vsebnost esencialnih aminokislin v različnih virih beljakovin (Day in sod., 2022)

	Esencialne aminokisline (mg/g beljakovin)								
	histidin	lizin	treonin	izolevcin	levcin	valin	fenilalanin + tirozin	triptofan	metionin + cistein
Živalske beljakovine									
kravje mleko	28	84	47	53	99	65	95	14	30
ovčje mleko	29	90	49	54	105	69	99	17	33
kozje mleko	30	97	54	69	105	80	111	15	42
goveje meso	31	70	36	40	65	46	61	10	35
prašičje meso	37	76	40	39	71	47	68	11	30
piščančje meso	34	100	46	52	85	51	40		31
jajce	25	78	51	57	91	64	98	12	47
Rastlinske beljakovine									
pšenična moka	26	27	31	37	75	47	85	13	41
koruza	27	29	36	39	128	51	100	8	44
oves	25	43	35	39	76	54	91	9	43
riž	26	28	37	45	88	63	82	14	44
sirek	18	16	29	34	127	43	76		7
soja	28	73	47	54	90	55	99	16	31
čičerika	23	55	32	38	65	37	82	10	22
leča	29	69	44	35	71	46	71	5	26
volčji bob	39	45	40	40	69	41	80	10	13
amarant	27	43	31	19	43	21	55		41
kvinoja	19	24	67	8	24	9	27	10	6
ajdove beljakovine	25	52	35	38	68	52	80	17	42
arašidi	25	39	22	35	70	40	88	7	16

Kljub nekaterim slabšim lastnostim pa predstavljajo rastlinske beljakovine aktualen in kakovosten vir za prehrano ljudi in se v zadnjih letih intenzivno uveljavljajo v najrazličnejše izdelke. Njihove prehranske in funkcionalne lastnosti je namreč mogoče optimizirati in jih tako prilagoditi različnim tehnološkim procesom proizvodnje živil (Tan in sod., 2023).

1.2 VIRI RASTLINSKIH BELJAKOVIN

Med trenutno najbolj aktualne surovinske vire rastlinskih beljakovin uvrščamo mnoga žita (Poutanen in sod., 2022) in stročnice (Rivera in sod., 2024). Poleg tega različni avtorji navajajo kot potencialne vire tudi druge skupine rastlin kot so psevdožita, oljnice, gomoljnice, oreščki in druga užitna semena (Munialo, 2024; Tan in sod., 2023).

Rastlinske beljakovine večinoma uvrščamo med ti. skladiščne ali založne beljakovine in jih delimo v štiri skupine oz. frakcije (Osbornove frakcije), katerih razdelitev temelji na topnosti in možnosti ekstrakcije v različnih topilih (v vodi topni albumini, v raztopini soli topni globulini, v 60–80 % vodni raztopini alkohola topni prolamini in v razredčeni kislini in alkalijah topni glutelini) (Day in sod., 2022).

Nedavne študije, so pokazale, da bi z nadzorom sestave in načinom obdelave posameznih beljakovinskih frakcij lahko prilagodili njihovo funkcionalnost. V raziskavi, ki so jo opravili na grahu, so ugotovili enakomerno topnost

beljakovin v albuminski frakciji v celotnem območju pH med 3 in 9, medtem ko je bila topnost beljakovin v globulinski frakciji okrog izoelektrične točke nizka. Izoelektrično obarjanje prispeva k zmanjšani sposobnosti želiranja beljakovinskih frakcij (Möller in sod., 2022). V naslednji raziskavi (Moll in sod., 2023) so iz suspenzije grahovitih beljakovin (pH 7) s centrifugiranjem pripravili topno in netopno frakcijo. Proti pričakovanjem se aminokislinska sestava v kontekstu deleža nabitih, polarnih nenabitih in hidrofobnih aminokislin kakor tudi deleža albuminov in globulinov ni preveč razlikovala. Opazili pa so velike razlike v površinski hidrofobnosti, ki je bila relativno majhna pri topni frakciji in za velikostni razred večja pri netopni frakciji, kar kaže na velik vpliv prostorske strukture in organizacije aminokislin v proteinih na koloidno stanje. V kislem pH so ugotovili velike razlike v velikosti in voluminoznosti agregiranih delcev pri pH 7 topne in pri pH 7 netopne frakcije. Netopne grahove beljakovine naj bi bile tako bolj primerne za zadrževanje vode/olja in tvorbo Pickeringove emulzije, topne grahove beljakovine pa za penjenje in tvorbo finega gela.

Vsebnost beljakovin se med različnimi rastlinskimi viri lahko zelo razlikuje (od 6 % do 44 %) in tudi razlike v deležih posameznih frakcij (Preglednica 2) so velike in značilne za posamezne skupine rastlin (Tan in sod., 2023). Najpomembnejše skladiščne beljakovine v žitih so prolamini (približno 50 % vseh beljakovin v zrnju, razen v rižu) in glutelini (20–40 % in 80 % v rižu). Te frakcije imajo veliko vsebnost prolina in glutamina, zato so na splošno netopne. Rastlinski globulini so glavna beljakovinska frakcija stročnic, saj predstavljajo 50–70 % vseh beljakovin stročnic. Albumini so na splošno bolj razširjeni v oljnicah in stročnicah (približno 20–25 %) ter vsebujejo veliko žveplo vsebujočih aminokislin, cisteina in metionina (Day in sod., 2022).

Preglednica 2: Vsebnost beljakovin in okvirni deleži posameznih frakcij v različnih žitih in stročnicah (%) (Tan in sod., 2023).

Rastlina	Beljakovine	Prolamini	Glutelini	Albumini	Globulini
Žita					
Pšenica	8,0 – 13,0	28,0–42,0	42,0 – 62,5	15,0 – 20,0	15,0 – 20,0
Koruza	10,3	50,0	40,0	5,0	5,0
Ječmen	10,0 – 12,0	30,0	25,0	2,0 – 3,0	2,0 – 3,0
Riž	6,0 – 8,0	3,0 – 6,0	75,0 – 81,0	5,0 – 10,0	7,0 – 17,0
Oves	16,9	10,0 – 15,0	35,0 – 40,0	20,0 – 25,0	20,0 – 25,0
Stročnice					
Grah	25,6	3,1	19,1	13,8	57,2
Soja	40,0	0,3	30,4	22,9	46,5
Volčji bob	44,0	0,6 – 1,8	5,7 – 11,9	8,9 – 23,9	13,1 – 29,4
Leča	26,0	1,4 – 2,0	2,1 – 3,5	56,3 – 64,0	26,5 – 29,5

Žitni izdelki predstavljajo najpomembnejšo skupino živil, saj prispevajo kar 50 % energijskega vnosa v globalnih dimenzijah. Primarno so različne vrste žit (pšenica, riž, koruza, ječmen, rž, oves in druga) ter psevdžita (ajda, amarant in kvinoja) vir ogljikovih hidratov oz. škroba, vendar je njihova vloga pri zagotavljanju zadostnega vnosa beljakovin marsikdaj podcenjena (Tan in sod., 2023). V odvisnosti od količine in vrste zaužitih žit oz. žitnih izdelkov predstavljajo 25–30 % virov beljakovin v prehrani odraslih ljudi, kar pomeni, da so najpomembnejši rastlinski vir beljakovin. Prebivalci velikega dela sveta (Afrika, Azija, deli Amerike in tudi Evropa) zaužijejo več beljakovin z žiti kot z mesom. Največji delež beljakovin se nahaja v endospermu žit, vendar je koncentracija bistveno večja v alevronski in subalevronske plasti v otrobih žit, kjer imajo beljakovine tudi boljše aminokislinsko sestavo (npr. vsebnost lizina v beljakovinah otrobov pšenice in riža je trikrat večja kot v endospermu) (Poutanen in sod., 2022). Tradicionalno je najpomembnejša žitna beljakovina, ki jo komercialno pridobivajo kot stranski produkt proizvodnje škroba iz pšenice, gluten oz. vitalni gluten. Uporabljajo ga kot dodatek za povečanje vsebnosti beljakovin in izboljšanje viskoelastičnih lastnosti testa pri različnih pekovskih in drugih žitnih izdelkih, poleg tega pa ga lahko dodajajo npr. pri različnih mesnih jedeh za povečanje sposobnosti vezave vode (Day in sod., 2022). Gluten je pomembna surovina tudi za proizvodnjo rastlinskih analogov mesa (Munialo, 2024). Omeniti velja presnovne motnje značilne za del populacije, med katerimi je najbolj poznana genetsko pogojena avtoimuna bolezen celiakija, kar delno omejuje uporabo glutena (Poutanen in sod., 2022). Uveljavljajo se tudi psevdžita, ki vsebujejo nekoliko več beljakovin (tudi več kot 20 %) z boljšo sestavo ter brez alergeničnih beljakovinskih frakcij (brezglutenska žita) (Day in sod., 2022).

Stročnice so predvsem zaradi velike vsebnosti beljakovin v zadnjih letih postale izjemno zanimiva surovina za frakcioniranje in pripravo beljakovinsko obogatenih frakcij, sicer pa so praktično na vseh kontinentih že tradicionalno uveljavljeno živilo. V primerjavi z žiti imajo stročnice večjo vsebnost beljakovin in boljše funkcionalnost; nekatere stročnice so tudi manj alergene (npr. grah v primerjavi s pšeničnim glutenom), spet druge predstavljajo visoko tveganje (arašidi in soja) (Rivera in sod., 2024). Najpomembnejša stročnica soja globalno ne predstavlja tako velikega prispevka kot pšenične beljakovine, vendar so zaradi zelo dobro uravnotežene aminokislinske sestave sojine beljakovine najboljši potencialen vir za nadomeščanje živalskih beljakovin. Soja je že dolgo surovina za pripravo različnih tradicionalnih živil (predvsem v Aziji), komercialno pa jo predelujejo v različne beljakovinske derivate kot so moka, proteinski koncentraci (več kot 65 % beljakovin) in izolati (več kot 90 % beljakovin), teksturirane in hidrolizirane beljakovine, ki jih uporabljajo pri proizvodnji različnih živil. Ostale vrste stročnic (čičerika, grah, leča, fižol) imajo nekoliko manjšo vsebnost beljakovin (izjema je volčji bob, ki vsebuje okrog 40 % beljakovin) z manj uravnoteženo sestavo, vendar jih procesirajo do podobnih proizvodov kot sojo in uporabljajo kot dodatke zaradi funkcionalnih lastnosti kot so sposobnost vezave vode in maščob, penjenje in druge (Day in sod., 2022).

1.3 PROCESIRANJE RASTLINSKIH SUROVIN ZA PRIDOBIVANJE BELJAKOVIN

Rastlinski materiali, ki jih uporabljamo za pridobivanje koncentriranih in funkcionalno čistih beljakovinskih frakcij, poleg beljakovin vsebujejo tudi ogljikove hidrate, vlaknine, maščobe, antinutritivne snovi in druge komponente, ki lahko omejujejo uporabnost v prehranski ali industrijski rabi. Med pripravo beljakovinskih frakcij z različnimi tehnološkimi postopki odstranimo neželene sestavine ter povečamo delež beljakovin na 50 % ali več, s čimer jim izboljšamo biološko in prehransko vrednost, prebavljivost in tehnološke lastnosti, hkrati pa razširimo področje njihove uporabe za razvoj najrazličnejših izdelkov s primerno teksturo, okusom in stabilnostjo (Chandran, Kashyap in Thakur, 2024). Priprava rastlinskih beljakovin vključuje različne tehnološke postopke, ki so odvisni od vira (stročnice, žita, oreščki, itd.) in končnega produkta (koncentraci ali izolati). Razlika med koncentratom in izolatom rastlinskih beljakovin je predvsem v vsebnosti beljakovin; beljakovinski koncentraci običajno vsebujejo med 50 % in 80 % beljakovin, medtem ko izolati vsebujejo nad 80 %, pogosto celo do 90 % ali več, saj gre za bolj prečiščeno obliko, pri kateri z dodatnimi tehnološkimi postopki odstranimo večino neželenih komponent kot so ogljikovi hidrati, vlaknine in maščobe. Večina metod priprave koncentriranih beljakovinskih frakcij vključuje predpripravo osnovne surovine homogeniziranje, frakcioniranje in koncentriranje beljakovinske frakcije ter pripravo končnega produkta (Rivera in sod., 2024).

1.3.1 Tehnološki postopki predpriprave rastlinskih surovin

Predpriprava rastlinskih materialov predstavlja ključno začetno fazo v verigi procesiranja, saj bistveno vpliva na učinkovitost nadaljnje ekstrakcije beljakovin ter na kakovost končnih produktov. Namen teh postopkov je odstraniti moteče komponente, optimizirati dostopnost beljakovin znotraj rastlinskega matriksa, zmanjšati antinutritivne faktorje ter izboljšati fizikalne in kemijske lastnosti substrata za nadaljnjo obdelavo (Gu in sod., 2023).

1.3.1.1 Mehansko čiščenje in razvrščanje

Postopek mehanskega čiščenja in razvrščanja semen se začne s prevzemom surovega semenskega materiala, ki običajno vsebuje različne nečistoče, kot so kamenčki, prah, zemlja, pleve in druge ostanke rastlin, poškodovana ali nedozorela semena ter semena drugih rastlin. Mehansko čiščenje vključuje več stopenj z različnimi načini ločevanja, med njimi: sejanje (glede na velikost delcev), gravitacijsko ločevanje (glede na razmerje med površino in volumnom, gostoto itd.), optično sortiranje (glede na barvo in obliko), magnetno ločevanje (odstranjevanje feromagnetnih delcev). Mehansko čiščenje pomembno vpliva na kakovost, varnost, prehransko vrednost in tehnološke lastnosti končnega produkta. Zanemarjanje tega koraka lahko vodi do težav pri ekstrakciji, slabše kakovosti beljakovin in celo zdravstvenih tveganj (alergeni, toksini) (Sinha in sod., 2023).

1.3.1.2 Luščenje

Pri nekaterih rastlinskih surovinah (npr. pri stročnicah) po mehanskem čiščenju sledi luščenje, kjer odstranimo zunanjo ovojnico, ki ni bogata z beljakovinami in vsebuje večji delež vlaknine ter antinutriente. Sodobne metode luščenja vključujejo mehanske, termične in kemijske postopke, ali njihove kombinacije, kar omogoča maksimalno učinkovitost (Rivera in sod., 2024). Pred postopkom luščenja je pogosto potrebno semena kondicionirati z uravnavanjem vsebnosti vlage, da postanejo optimalno prožna in manj lomljiva, kar omogoča učinkovitejše ločevanje ovojnice od notranjega jedra. Sam postopek luščenja običajno izvedemo mehansko, pri čemer se uporabljajo različni luščilni stroji, kot so valjni luščilniki ali centrifugalni luščilniki, ki na principu trenja, stiskanja ali udarcev mehansko ločijo ovojnico. Ločeno semensko ovojnico odstranimo s pomočjo aspiracijskih sistemov ali sit, pri čemer lažji delci ovojnice odletijo, medtem ko težje beljakovinsko bogato jedro ostane. V nekaterih primerih, zlasti pri manjših ali bolj občutljivih semenih, uporabljamo tudi kombinirane tehnike, kot so abrazivno luščenje ali uporaba posebnih bobnastih sistemov. Natančno izvedeno luščenje izboljša čistost materiala, poveča delež beljakovin v nadaljnji predelavi in zmanjša vsebnost vlaknin ter antinutritivnih snovi za več kot 50%, hkrati pa prispeva k boljši učinkovitosti mletja, ekstrakcije in frakcioniranja, kar je bistveno za pridobivanje kakovostnih rastlinskih beljakovinskih koncentratov ali izolatov (Gu in sod., 2023).

1.3.1.3 Mletje

Postopek mletja je ključni korak v predpripravi surovin in izjemno vpliva na kasnejšo separacijsko in ekstrakcijsko učinkovitost. Pri tem je treba paziti na prekomerno toplotno obremenitev, ki lahko povzroči denaturacijo beljakovin in posledično izgubo njihovih funkcionalnih lastnosti. Pri proizvodnji rastlinskih beljakovin poznamo več vrst mletja osnovne surovine, odvisno od vrste surovine (npr. soja, grah, pšenica), končnega cilja (koncentrat ali izolat) ter zelenih funkcionalnih lastnosti beljakovin. V nadaljevanju so predstavljeni najpogostejši načini mletja. Za grobo mletje je značilno zmanjšanje velikosti večjih delcev za nadaljnjo obdelavo kot je namakanje, termična obdelava ali nadaljnje fino mletje. Za ta namen uporabljamo različne valjčne ali kladvne mline. Fino mletje temelji na povečanju površine za učinkovito nadaljnjo ekstrakcijo beljakovin. Za ta namen uporabljamo različne valjčne, diskaste in kladvne mline. Mokro mletje poteka v prisotnosti vode ali druge tekočine. Omogoča boljšo ločbo rastlinskih tkiv in zmanjšuje prašenje. Pogosto se uporablja v kombinaciji z encimskimi ali toplotnimi postopki. Kriomletje poteka pri nizkih temperaturah (npr. s tekočim dušikom) in je uporabno zlasti za občutljive materiale, za katere obstaja nevarnost toplotne denaturacije beljakovin. Prednost takega načina mletja je ohranjanje strukture in funkcionalnosti beljakovin. Ultrafino mletje z nanomlini in visokoenergijski mlini se uporablja za pridobitev zelo drobnih delcev za specializirane aplikacije (npr. funkcionalna živila) (Yu in sod., 2023).

1.3.2 Postopki ekstrakcije rastlinskih beljakovin

Ekstrakcija beljakovin pomeni ločevanje beljakovinske frakcije od ostalih sestavin rastlinskega matriksa. Ključna merila uspešnosti metode so: donos, čistost, ohranjena funkcionalnost beljakovin in ekonomska učinkovitost postopka.

1.3.2.1 Mokro frakcioniranje z alkalno ekstrakcijo

Mokro ločevanje predstavlja najpogostejši način ekstrakcije. Frakcioniranje z alkalno ekstrakcijo obsega raztapljanje mlete surovine v raztopini NaOH (pH 8,5–10), kar vpliva na večjo topnost beljakovin (Hadidi in sod., 2023). Po intenzivnem mešanju zmesi sledi centrifugiranje ali filtriracija, z namenom odstranitve netopnih sestavin, kot so vlaknine in škrob, pri čemer beljakovine ostanejo v raztopini. Pomanjkljivost mokrega frakcioniranja je visoka poraba vode in energije, saj postopek vključuje več faz ekstrakcije, uravnavanje pH, centrifugiranja, pranja in sušenja, kar pomeni obsežno rabo virov ter povečano količino odpadnih voda, ki zahtevajo dodatno obdelavo. Poleg tega lahko visoke temperature in pH vrednosti povzročijo denaturacijo beljakovin, kar zmanjšuje njihovo funkcionalnost in biološko vrednost. Mokri postopek je tudi relativno dolgotrajen in zahteva več korakov ter kompleksno opremo, kar povečuje stroške proizvodnje in otežuje implementacijo v manjših proizvodnih sistemih (Chandran in sod., 2023).

1.3.2.2 Encimsko pospešena ekstrakcija

Z uporabo specifičnih encimov za razgradnjo celičnih sten in drugih strukturnih komponent rastlinskega materiala olajšamo sproščanje beljakovin in izboljšamo njihovo topnost. Postopek začnemo z mehansko obdelavo in raztapljanjem rastlinskega materiala v vodi, čemur sledi dodajanje ustreznih encimov, kot so celulaze, hemicelulaze, pektinaze, ki ciljano razgradijo polisaharide v celičnih stenah. Postopek običajno poteka pri kontrolirani temperaturi (med 40 in 60 °C) in pH-ju, ter traja od nekaj do več ur, odvisno od vrste surovine in uporabljene encimske mešanice. Z encimsko hidrolizo povečamo izkoristek ekstrakcije, saj encimi omogočijo lažje sproščanje beljakovin v raztopino brez uporabe ekstremnih kemijskih pogojev, kar zmanjša tveganje za denaturacijo in ohranja funkcionalne lastnosti beljakovin. Po končani encimski obdelavi sledi ločevanje tekoče frakcije z raztopljenimi beljakovinami s podobnimi postopki, ki so opisani pri mokrem postopku z alkalno ekstrakcijo. Encimsko pospešena ekstrakcija je okolju prijaznejša in učinkovitejša alternativa tradicionalnim metodam, omogoča višji izkoristek, boljšo kakovost beljakovin in zmanjšano porabo kemikalij ter energije (Kumar in sod., 2021).

1.3.2.3 Fizikalne metode ekstrakcije

Fizikalne metode ekstrakcije rastlinskih beljakovin predstavljajo sodobne in okolju prijaznejše pristope, pri čemer temeljijo na uporabi fizikalne energije za razgradnjo celičnih struktur in omogočajo sproščanje beljakovin z minimalno uporabo kemikalij (Rivera in sod., 2024).

Ultrazvočna ekstrakcija deluje na osnovi kavitacije, ki nastane ob prehodu ultrazvočnih valov visoke frekvence skozi tekočino, v kateri je suspendiran rastlinski material. Zaradi nastanka in implozije mikroskopskih mehurčkov se ustvarijo lokalno zelo visoke temperature in pritiski, ki mehansko poškodujejo celične stene in povzročijo sproščanje intracelularnih komponent, vključno z beljakovinami. Postopek je hiter, energijsko učinkovit, omogoča visoke izkoristke in se izvaja pri zmernih temperaturah, kar zmanjšuje tveganje za denaturacijo beljakovin (Hewage in sod., 2022).

Ekstrakcija s pulzirajočim električnim poljem (PEF) je še ena inovativna fizikalna metoda, ki vključuje izpostavljanje rastlinske suspenzije kratkotrajnim, a intenzivnim električnim impulzom, kar povzroča začasno ali trajno povečanje prepustnosti celične membrane zaradi nastanka por (tj. elektroporacijo). Slednje omogoča lažje izločanje beljakovin iz notranjosti celic v raztopino brez mehanskih ali kemijskih poškodb materiala. Energetsko učinkovita PEF tehnologija omogoča visoko selektivnost, manjšo porabo topil in ohranjanje naravnih funkcionalnih lastnosti beljakovin (Ramaswamy in Bala Krishnan, 2024).

Mikrovalovna ekstrakcija temelji na interakciji mikrovalovnega valovanja s polarno komponento rastlinske suspenzije (najpogosteje voda), pri čemer pride do hitrega lokalnega segrevanja znotraj celic, kar povzroči razpad celičnih sten in sproščanje beljakovin. Ta metoda bistveno skrajša čas ekstrakcije in lahko poteka brez dodajanja kemikalij, vendar je treba natančno nadzorovati parametre, kot so moč mikrovalov, čas izpostavljenosti in temperatura, saj lahko previsoke vrednosti vodijo do denaturacije beljakovin. Prednost mikrovalovne obdelave je tudi njena enostavna integracija v obstoječe ekstrakcijske procese in možnost obdelave različnih vrst rastlinskih materialov z visoko vsebnostjo vode ali vlage (Hewage in sod., 2022).

Visokotlačna ekstrakcija se izvaja s pomočjo visokotlačnih homogenizatorjev ali visokotlačnih reaktorjev in temelji na izpostavljanju rastlinskega materiala izjemno visokim tlakom (več sto MPa), kar povzroči mehansko poškodbo celičnih sten, sproščanje beljakovin in povečanje njihove topnosti. Postopek je učinkovit, saj omogoča ekstrakcijo pri nizkih temperaturah, kar ohranja naravno strukturo in funkcionalnost beljakovin, prav tako pa ne zahteva uporabe topil ali dodatkov (Shawky in sod., 2025).

Skupna značilnost vseh omenjenih fizikalnih metod je, da omogočajo bolj trajnostno pridobivanje rastlinskih beljakovin z zmanjšano porabo energije, kemikalij in vode ter boljšo ohranitev prehranske vrednosti in funkcionalnih lastnosti končnih beljakovinskih proizvodov. Zaradi svoje učinkovitosti, selektivnosti in možnosti

uporabe v kombinaciji z drugimi postopki postajajo te metode vedno bolj priljubljene v industrijski praksi, še posebej v kontekstu razvoja visokokakovostnih in beljakovinskih sestavin za prehransko, kozmetično in farmacevtsko industrijo (Kumar in sod., 2021).

1.3.2.4 Suho frakcioniranje

Postopek suhega frakcioniranja rastlinskih beljakovin začnemo z mehansko obdelavo rastlinskega materiala, ki ga najprej očistimo in zmeljemo. Tako dobljena zmljeta surovina je nato podvržena postopku zračne klasifikacije (angl. air classification), kjer se s pomočjo tokov zraka delci med sabo ločijo glede na njihovo obliko, velikost in gostoto, pri čemer pride do ločevanja na dve glavni frakciji – bogato z beljakovinami (t. i. beljakovinski koncentrat), in bogato z škrobom ali vlakninami. Ker se pri tem postopku ne uporablja vode ali topil, se ohranijo naravne funkcionalne lastnosti beljakovin, kot so topnost, sposobnost emulgiranja in encimska aktivnost, vendar pa je čistost beljakovin običajno nižja kot pri mokrem frakcioniranju. Pomanjkljivost metode je, da tako pridobljena beljakovinska frakcija še vedno vsebuje določeno količino drugih komponent, kot so vlaknine in ogljikovi hidrati (Pulivarthi in sod., 2023).

1.3.3 Postopki izolacije rastlinskih beljakovin

Po postopku ekstrakcije rastlinskih beljakovin, pri katerem se beljakovine sprostijo iz celičnih struktur in preidejo v raztopino, sledijo postopki izolacije in koncentriranja, s čimer se poveča čistost beljakovin in s tem njihova končna vsebnost.

1.3.3.1 Izelektrično obarjanje

Izelektrično obarjanje je najpogostejše uporabljena metoda na industrijskem nivoju. Gre za preprost in učinkovit postopek koncentriranja in delnega čiščenja beljakovin. Izločanje beljakovin iz raztopine dosežemo z znižanjem pH na njihovo izoelektrično točko (ki je običajno med 4 in 5), pri katerem se oborijo in izločijo iz raztopine. Ta proces se pogosto izvaja po tem, ko je bil pH med ekstrakcijo povišan (alkalna hidroliza), nato pa se z dodatkom kisline, kot je klorovodikova ali citronska, pH zniža do izoelektrične točke. Oborjene beljakovine ločimo s centrifugiranjem ali filtracijo, pri čemer dobimo beljakovinsko pasto, ki jo lahko nadalje obdelamo s pranjem, da odstranimo preostale nečistoče, ter na koncu posušimo. Najpogostejše se uporablja sušenje z razprševanjem (spray drying). Če želimo ohraniti funkcionalne lastnosti še posebej občutljivih beljakovin, se priporoča postopek liofilizacije (Zhu in sod., 2024).

1.3.3.2 Membranska filtracija

Prednost uporabe membranske filtracije za izolacijo beljakovin po alkalni ekstrakciji je boljša ohranjenost funkcionalnih lastnosti beljakovin. Metoda temelji na uporabi različnih vrst membran – najpogostejše ultrafiltracijskih (UF) in nanofiltracijskih (NF) – ki delujejo kot selektivne pregrade in omogočajo ločevanje beljakovin od manjših molekul kot so soli, sladkorji in ostale snovi z majhno molsko maso, kar omogoča koncentriranje in delno čiščenje beljakovin brez potrebe po spreminjanju pH ali toplotni obdelavi. Postopek lahko nadgradimo s fazo dialize ali diafiltracije za dodatno odstranjevanje nečistoč. Čistost rastlinskih beljakovin po postopku membranske filtracije je običajno med 70 % in celo več kot 90 %, odvisno od vrste uporabljene membrane, vrste predhodne ekstrakcije in specifičnih procesnih nastavitvah (tlak, temperatura, pretok ipd.). Ker membranska filtracija poteka pri blagih pogojih, brez uporabe organskih topil, višjih temperatur in pH vrednosti, tako izolirane beljakovine ohranijo svojo naravno strukturo in funkcionalnost (Aliabbasi in sod., 2024).

1.4 FUNKCIONALNE LASTNOSTI RASTLINSKIH BELJAKOVIN

Rastlinske beljakovine predstavljajo trajnostno in vsestransko alternativo beljakovinom živalskega izvora. Na globalni ravni beljakovinski trg vključuje več kot 60 različnih rastlinskih virov, kar proizvajalcem daje širok izbor, a tudi zahtevno nalogo optimizacije za vsak izdelek. Njihova učinkovitost je odvisna od biološkega izvora, predelave in sestave. Funkcionalne lastnosti rastlinskih beljakovin, vključno s topnostjo, vezavo tekočin,

emulgiranjem, želiranjem in penjenjem, omogočajo njihovo uporabo v širokem spektru živil (Etzbach in sod., 2024).

1.4.1 Mehanizmi delovanja

Primarna struktura beljakovin definira prostorsko strukturo in s tem njihovo funkcionalnost. Med tehnološko najpomembnejšimi lastnostmi je topnost, še posebno za uporabo v pijačah in emulzijah. Topnost beljakovin je odvisna od hidrofilnih in hidrofobnih interakcij, neto površinskega naboja in molekulske konformacije. Napolarni in hidrofobni aminokislinski ostanki so v polarnih topilih kot je voda največkrat v notranjosti beljakovin, hidrofilni ostanki pa na površini. Elektrostatski odboj med podobno nabitimi molekulami beljakovin preprečuje agregacijo; ko le-ta postane prešibek, se molekule beljakovin združujejo in oborijo, pri čemer pa beljakovine ne denaturirajo (Tan in sod., 2023). Visoka topnost je običajno predpogoj za druge funkcionalnosti, kot so emulgiranje, penjenje in želiranje. S topnostjo beljakovin je pogojena tudi vrsta živila, ki ga je mogoče proizvesti (trdno, tekoče), katere faze je mogoče stabilizirati (olje, zrak), katero vrsto potrebnega postopka obdelave je potrebno uporabiti (toplotna obdelava, zmanjšanje velikosti delcev, mešanje itd.) in čas, ki je potreben za izvedbo teh postopkov (nabrekanje, hidroliza, mešanje itd.). Topnost beljakovin vpliva na različne kakovostne parametre, kot so videz, sedimentacija, viskoznost in okus. Po zaužitju topnost beljakovin vpliva na občutek v ustih, prebavljivost in številne vrste presnovnih odzivov (Grossmann in McClements, 2023).

Sposobnost vezave vode (WBC) oz. olja (OBC) se nanaša na maso vode oz. olja, ki jo lahko veže in zadrži 1 g proteinskega prahu pri standardiziranih pogojih. Voda se veže na hidrofilne ostanke, maščobne kisline pa na hidrofobne beljakovinske regije. V splošnem se WBC izboljša s povečano vsebnostjo polarnih aminokislin in nasprotno, OBC z naraščajočo vsebnostjo napolarnih aminokislin. Večja specifična površina in poroznost beljakovinskih agregatov prav tako povečata absorpcijo vode/maščob. Primernost beljakovin za uporabo v živilu je pogosto določena z razmerjem med WBC in OBC, na katerega med drugim vpliva prisotnost ostalih nebeljakovinskih komponent v živilu ter denaturacija (Hadidi in sod., 2023).

Emulgiranje je funkcionalna lastnost beljakovin, še posebej pomembna pri zasnovi živil, kot so rastlinska mleka, solatni preliv, omake in nadomestki za meso. Beljakovine delujejo kot površinsko aktivne snovi zahvaljujoč svoji amfifilni naravi (imajo hidrofobne in hidrofilne skupine). Ta lastnost jim omogoča, da se razporedijo v medfazni prostor olje-voda. Ko so enkrat adsorbirane, se beljakovine delno odvijajo, pri čemer hidrofobna območja izpostavijo oljni fazi, hidrofilne skupine pa vodni fazi in tako pripomorejo k zmanjšanju medfazne napetosti. Okoli kapljic olja se nato tvori viskoelastični beljakovinski film, ki zaradi steričnih in elektrostatskih dejavnikov preprečuje koalescenco in posledično ključno pripomore k stabilizaciji emulzije. Sposobnost emulgiranja je največkrat najnižja pri pH vrednosti izoelektrične točke beljakovin in se znatno izboljša pri nevtralnem pH, kjer so beljakovine bolj topne. Potencial za emulgiranje je močno odvisen od površinske hidrofobnosti in naboja beljakovin. Denaturacija in s tem povezana izpostavitve napolarnih funkcionalni skupin ima lahko pozitiven vpliv na emulgiranje, saj se razkriti hidrofobni ostanki učinkoviteje vežejo na maščobne kapljice (Etzbach in sod., 2024).

Penjenje je sposobnost proteinov, da vključijo in stabilizirajo zrak ter tako tvorijo razpršeno plinsko fazo v kontinuirani vodni fazi. Ta lastnost je bistvena za teksturo in prostornino številnih živilskih izdelkov, kot so pene, torte, stepeni preliv, gazirane pijače in kavna pena. Zaradi vse večjega povpraševanja potrošnikov po alternativah na rastlinski osnovi in brez alergenov, se testira različne proteine rastlinskega izvora kot funkcionalna sredstva za penjenje, ki nadomeščajo sestavine živalskega izvora, kot so jajčni beljaki in beljakovine sirotke. Na tvorbo pene vplivata dve kritični fazi. Peni tvorijo beljakovine med mešanjem ali stepanjem, ko zrak ulovi kapljice vode obdane z beljakovino. Beljakovine se pri tem adsorbirajo na fazno mejo zrak-voda, delno odvijajo in tvorijo viskoelastični medfazni film. Beljakovinski film stabilizira mehurčke zraka z elektrostatskim odbijanjem, sterično oviro in medbeljakovinskimi interakcijami (hidrofobne, disulfidne in vodikove vezi). Trdnost in prožnost tega filma določata stabilnost pene. Za stabilno peno se morajo beljakovine hitro adsorbirati na mejo voda-zrak in oblikovati prožno kohezivno plast. V bližini izoelektrične točke, kjer je neto naboj beljakovin blizu nič, hitreje nastaja pena, saj je odboj med molekulami manjši. Pri pH $\approx$ 4 večina izoliranih rastlinskih beljakovin (npr. grah,

soja) tvori bogato peno. Odločilni dejavniki pri tem so topnost (hitrejše difundirajo v medfazni prostor) ter molekulska fleksibilnost in hidrofobnost (mreža se lažje oblikuje) (Etzbach in sod., 2024).

Želiranje je ključna funkcionalna lastnost beljakovin, ki vključuje nastanek tridimenzionalne (3D) mreže, v katero se ujame voda in druge molekule. V prehranskih sistemih želiranje določa teksturo, sposobnost zadrževanja vode in strukturno celovitost, zaradi česar je ključnega pomena za aplikacije, kot so rastlinsko meso, jogurti, pudingi in namazi. Želiranje se začne z delnim odvijanjem beljakovinske verige. Denaturacija (termična ali pH) največkrat privede do agregacije beljakovin preko hidrofobnih interakcij, tvorbe vodikovih vezi in disulfidnih mostičkov. Agregati tvorijo mrežo, ki ujame vodo in ustvari viskoelastičen gel. Rastlinske beljakovine lahko tvorijo gel predvsem pri segrevanju ali ustrezni obdelavi (dodatek encimov, soli) (Ma in Chen, 2023).

1.4.2 Dejavniki vpliva na funkcionalnost rastlinskih beljakovin

Eden ključnih dejavnikov, ki močno vpliva na topnost in naboj molekul je pH. V bližini izoelektrične točke ($\text{pH} \approx 4\text{--}5$ za večino rastlinskih beljakovinah) je topnost najmanjša. Odstopanje od izoelektrične točke (kislo ali alkalno okolje) poveča topnost in običajno izboljša emulzijske lastnosti, medtem ko sprememba pH ne vodi do signifikantnih razlik v sposobnosti penjenja (Etzbach in sod., 2024). Termična denaturacija največkrat izboljša emulgiranje (več adsorpcije na oljne kapljice) in želiranje (tvorba kompleksnejših mrež), a lahko zmanjša penjenje (prekinitev kohezivne filmske strukture). Po segrevanju se pogosto pokaže izboljšana sposobnost vezave vode in tvorba močnejšega gela. Med dejavnike, ki določajo funkcionalne lastnosti rastlinskih beljakovin uvrščamo tudi ionsko moč. Prisotnost soli lahko stabilizira nabite skupine na beljakovinah, zmanjša elektrostatični odboj in v nekaterih primerih poveča topnost. V raztopinah z visoko koncentracijo ionov beljakovine največkrat lažje tvorijo gel. Nizke koncentracije soli pogosto izboljšajo emulgiranje, medtem ko lahko visoke povzročijo prezgodnjo denaturacijo (Ma in Chen, 2023). Nadalje, funkcionalnost in možnost aplikacije rastlinskih beljakovin narekuje tudi njihova čistost ter pogoji v fazi izolacije. Razlike med koncentratu, izolatu ali netretirano homogenizirano surovino so velike. Na primer, koncentratu lahko vsebujejo škrob ali vlaknine, ki negativno vplivajo na stabilnost emulzije, medtem ko čisti izolati dajejo boljšo stabilnost (Etzbach in sod., 2024). Tudi delna denaturacija kot posledica različnih korakov procesiranja lahko poslabša topnost in nekatere funkcionalne lastnosti, spet druge pa izboljša (Ma in sod., 2022). Mikrobná fermentacija razgradi beljakovine do manjših peptidov in aminokislin. Encimska hidroliza običajno sicer izboljša topnost beljakovin, a lahko hkrati poslabša sposobnost tvorbe gelske mreže (manjša viskoznost). Po drugi strani nekateri encimi, kot je transglutaminaza, ustvarijo dodatne kovalentne vezi med beljakovinami, kar izboljša želiranje in zadrževanje vode v izdelkih. V grobem velja, da lahko zmerna hidroliza preko tvorbe manjših molekul in več prostih skupin izboljša emulzijske in penilne lastnosti (Wouters in sod., 2016).

1.4.3 Funkcionalnost individualnih rastlinskih beljakovin

Preglednica 3 povzema funkcionalne lastnosti beljakovin izbranih virov, avtorji (Day in sod., 2022) pa so pri pregledu literature opozorili na velika odstopanja v poročanih vrednostih. Sojine beljakovine (izolati) imajo dobro topnost v širokem pH območju in visoko penilno sposobnost (Barac in sod., 2015). Za grahove beljakovine je značilna dobra topnost ter zmerna sposobnost vezave vode/olja, emulgiranja in želiranja (Shanthakumar in sod., 2022). Topnost lečinih beljakovin je odvisna od sorte, v splošnem pa je zanje značilna relativno dobra sposobnost vezave vode (Ma in sod., 2022). Riževe beljakovine so v vodi slabo topne, posledično je omejena tudi njihova sposobnost emulgiranja in penjenja (Etzbach in sod., 2024). Ustrezno obdelane ovsene beljakovine lahko tvorijo močne gele, medtem ko je topnost in penjenje neobdelane oblike zmerna (Immonen in sod., 2021). Beljakovine glutenske frakcije imajo visoko elastičnost in želirajo, njihova topnost je boljša pri pH 4 kot v nevtralnem pH (Etzbach in sod., 2024).

Preglednica 3 poleg primerjave med različnimi stročnicami in žitaricami podaja tudi razlike med funkcionalnimi parametri rastlinskih in živalskih beljakovin. Avtorji (Day in sod., 2022) so poudarili, da je primerjava tehnološke funkcionalnosti beljakovin iz različnih virov smiselna zgolj v primeru standardiziranih metod (določanje topnosti, emulgiranja ter sposobnosti zadrževanja olja in vode), medtem ko je za ostale (sposobnosti penjenja in želiranja)

zaradi različne opreme in metod, ki so v uporabi, nezanesljiva. Spet drugi navajajo, da dosegajo živalske beljakovine v splošnem boljšo topnost in boljšo emulzijsko/penilno zmogljivost. Na primer, sirotkine beljakovine so v vodi dobro topne in tvorijo stabilne emulzije, kazein daje dober emulzijski sistem, a slabo peno, medtem ko jajčne beljakovine ustvarjajo izjemno stabilno peno. Rastlinske beljakovine (npr. grahove, sojine) imajo pogostokrat boljšo sposobnost za vezavo vode in so cenejše, a imajo specifično aromatičnost in v splošnem slabšo zmožnost tvorbe stabilne pene (Wouters in sod., 2016).

Preglednica 3: Funkcionalnost izbranih rastlinskih in živalskih beljakovin (Day in sod., 2022).

Vir	Topnost	Vezava vode	Vezava olja	Emulgiranje
Grah	raznolika*	zmerna	raznolika	raznolika*
Soja	raznolika*	raznolika*	raznolika	zmerna
Pšenica	raznolika*	slaba	slaba	zmerna
Riž	np	slaba	slaba	slaba
Leča	dobra	zmerna	raznolika*	zmerna
Čičerika	raznolika*	raznolika*	raznolika*	zmerna
Kazein	dobra	zmerna	slaba	raznolika*
Jajce	dobra	np	zmerna	np
Želatina	np	raznolika*	slaba	raznolika*
Sirotka	dobra	np	slaba	zmerna

*zmerna do dobra, odvisno od načina ekstrakcije; np – ni podatka

1.5 NOVODOBNE APLIKACIJE RASTLINSKIH BELJAKOVIN V ŽIVILIH

Zaradi sodobnih prehranskih trendov ter zmanjševanja okoljske obremenitve se rastlinske beljakovine masovno uvajajo v mlečne in mesne nadomestke, pekovske izdelke, emulzije, omake in so nepogrešljive v športni prehrani.

Za proizvodnjo mleku podobnih rastlinskih napitkov se največkrat uporablja soja, oves, mandlje in riž. Osnovnim surovinam so pogosto dodane beljakovine graha, soje ali riža za izboljšanje teksture in aminokislinskega profila. Rastlinski beljakovinski izolati omogočajo pripravo kavnih napitkov, sladoledov in jogurtov. Na primer sojine beljakovine omogočajo dobro stabilnost emulzije v napitkih, grahove pa dajejo kremasto teksturo in povečajo vsebnost beljakovin brez dodatnega alergijskega tveganja (Shanthakumar in sod., 2022).

Recepture mesnih analogov pogosto temeljijo na pšeničnem glutenu ter sojinah ali grahovitih beljakovinah, ki omogočajo tvorbo vlaknaste strukture in posledično dajejo izboljšan občutek v ustih. Poleg že omenjenih virov postajajo vse zanimivejše tudi nekatere oljnice in psevdožita. Dodajanje rastlinskih beljakovin izboljša prehransko vrednost (uravnotežena sestava aminokislin), sočnost (sposobnost zadrževanja vode/maščobe) in teksturo (dobre želirne lastnosti, stabilnejši gel) (Kyriakopoulou, Keppler in van der Goot, 2021).

Rastlinske beljakovine so vse bolj razširjene tudi v proizvodnji ekstrudiranih kosmičev in prigrizkov. Pri ekstruzijskem kuhanju škrob zakleji, beljakovine denaturirajo, večina antinutritivnih spojin pa se inaktivira. Ekstrudirani izdelki, obogateni z izolatami grahovitih beljakovin vsebujejo več beljakovin in imajo bolj uravnotežen profil aminokislin v primerjavi z ekstruzijo neobogatene različice (Shanthakumar in sod., 2022).

Beljakovine iz graha, soje in čičerike se uporabljajo tudi kot emulgatorji v omakah, prelivih in izdelkih narejenih iz rastlinskih maščob. Zaradi amfifilne narave tvorijo gladke in stabilne emulzije, primerne za veganske majoneze in prelive, pogosto z višjo WHC kot klasične maščobe, kar izboljša kremast občutek v ustih (Etzbach in sod., 2024).

Beljakovine rastlinskega izvora pridobivajo na veljavi tudi v pekarstvu in slaščičarstvu. Uporaba grahovitih in sojinah beljakovin je aktualna v proizvodnji izdelkov s povečano vsebnostjo beljakovin kot tudi v proizvodnji brezglutenskih izdelkov. Poleg prehranske vrednosti, izboljšane strukture in teksture, so dodane beljakovine odgovorne za povečano hidratacijo testa in izboljšan volumen pekovskih izdelkov. Nadomestitev glutena (delna ali v celoti) z beljakovinami rastlinskega izvora ni novost niti pri proizvodnji testenin, kjer vplivajo na vezavo

vode. Prav tako se rastlinske beljakovine (npr. sojina ali pšenična) uporabljajo namesto jajc v sladica, tem izdelkom dajejo peno in strukturo (Shanthakumar in sod., 2022).

Za proteinske napitke in razne dodatke športni prehrani se najpogosteje uporabljajo izolati graha, soje ali konoplje. Grahovi proteinski izolati so še posebej priljubljeni zaradi vsebnosti esencialnih aminokislin in nizke alergnosti (Shanthakumar in sod., 2022).

1.6 IZZIVI IN OMEJITVE

Rastlinske beljakovine so v zadnjem času pritegnile posebno zanimanje zaradi svojega trajnostnega izvora, nižjih stroškov in koristi za zdravje v primerjavi z živalskimi beljakovinami. Vendar pa ima večina od njih omejeno uporabo zaradi slabše funkcionalnosti, ki je posledica slabe topnosti v vodi in kompleksnosti matriksa. Poleg tega beljakovine iz rastlinskih virov pogostokrat obdaja celična stena iz hemiceluloze, lignina in drugih slabo prebavljivih polisaharidov, kar dodatno zmanjšuje njihovo biološko uporabnost. Rastlinske beljakovine je v primerjavi z beljakovinami živalskega izvora zato običajno težje predelati, poleg tega so bolj dovzetne za zunanje dejavnike, vključno s temperaturo, pH in ionsko močjo. Poleg tega rastlinske viri beljakovine pogosto vsebujejo antinutritivne spojine ter spojine z neprijetno aromo (Etzbach in sod., 2024; Nikbakht Nasrabadi in sod., 2021). Okusi, kot so note po fižolu, lahko odvrnejo potrošnike (Roland in sod., 2017). Soja in gluten sta prepoznana alergena in zahtevata jasno označevanje (EFSA Panel on Dietetic Products in Allergies, 2014). Nekatere rastlinske beljakovine imajo nižjo biološko vrednost kot živalske beljakovine (Bailey in Stein, 2019).

1.7 MODIFIKACIJA RASTLINSKIH BELJAKOVIN Z NAMENOM NJIHOVEGA IZBOLJŠANJA

Modifikacija rastlinskih beljakovin s spreminjanjem njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti omogoča izboljšanje in diverzifikacijo njihove tehnološke funkcionalnosti in bioloških aktivnosti ter odpravljanje njihovih omejitev. Pri izbiri metode je potrebno upoštevati končno uporabo, zlasti pri živilih, saj lahko vpliva na funkcionalne, hranilne in organoleptične lastnosti beljakovin. Različne fizikalne (segrevanje, obsevanje z gama žarki ali ultravijolično svetlobo, ultrafiltracija, uporaba hladne atmosferske plazme, visokih tlakov, kroglčnega mlina, ekstruzije, sonifikacije, pulzirajočega električnega polja itd.), kemijske (glikacija, fosforilacija, acilacija, deamidacija, kationizacija, spreminjanje pH), biološke metode (encimsko tretiranje in fermentacija), kot tudi drugi pristopi (kompleksiranje z drugimi spojinami in amiloidna fibrilizacija) povzročijo kemijske, strukturne in bio-fizikalne spremembe v rastlinskih beljakovinah, kar vodi do izboljšanih tehnološko-funkcionalnih lastnosti (Nikbakht Nasrabadi in sod., 2021).

Glavno pomanjkljivost kemijskega pristopa največkrat predstavlja uporaba različnih kemikalij in s tem povezanih odpadkov. Funkcionalne lastnosti proteinov se lahko spremeni z glikacijo (npr. Maillardova reakcija pri blagih pogojih), pri čemer se ne uporablja klasičnih kemikalij in ne tvorijo se potencialno toksični stranski produkti, zato je z vidika predpisov o varnosti živil takšen pristop morda trenutno še najbolj zaželen za modifikacijo rastlinskih beljakovin, saj je v celoti v skladu z naraščajočim trendom sestavin s "čisto etiketo". Tudi fizikalne in biološke pristope se že uporablja na industrijski ravni. Nekatere fizikalne metode, kot sta toplotna ali visokotlačna obdelava, se že dolgo uporabljata v predelavi hrane, vendar pa je potrebno energetsko in stroškovno učinkovitost teh tehnik ponovno oceniti, da bi se v celoti uskladile s cilji trajnostnega razvoja. Izboljšanje kakovosti rastlinskih beljakovin z uporabo bioloških metod, kot so encimi in fermentacija, prav tako pritegne zanimanje, saj gre največkrat za okolju prijazne in nizkoenergijske procese, vendar pa je treba pri uporabi v velikem obsegu upoštevati tudi stroške encimov in mikrobioloških kultur. Poleg tega so beljakovinski hidrolizati pogostokrat grenki in/ali trpkega priokusa. Ena od najnovejših in najprivlačnejših metod za modifikacijo rastlinskih beljakovin je amiloidna fibrilizacija, ki je učinkovita in uspešna; ker pa je ta metoda relativno nova v živilski tehnologiji, še vedno potekajo raziskave za celovito oceno biološke varnosti in prebavljivosti tako modificiranih beljakovin; vse doslej razpoložljive indikacije kljub temu kažejo na varno uporabo v živilski industriji (Nikbakht Nasrabadi in sod., 2021).

2 ZAKLJUČEK

Proizvodnja rastlinskih beljakovin iz žit in stročnic zahteva premišljen izbor postopkov, ki združujejo visok donos, funkcionalnost in trajnostno naravnost. Napredek v procesiranju žit in stročnic omogoča razvoj čedalje bolj sofisticiranih izdelkov, ki ustrezajo prehranskim in senzoričnim zahtevam potrošnikov. Pričakuje se, da bo racionalna zasnova modificiranih rastlinskih beljakovin z izboljšanimi prehranskimi, senzoričnimi in tehnološko-funkcionalnimi lastnostmi odprla nove priložnosti v živilski industriji in omogočila oblikovanje novih kompleksnih živil na osnovi rastlinskih beljakovin in njihovih hibridov z mlečnimi in živalskimi analogi. Prihodnost je v kombinaciji surovin, integraciji postopkov in optimizaciji za specifične aplikacije. Rastlinske beljakovine igrajo vse pomembnejšo vlogo v sodobnih prehranskih sistemih. Izobraževanje potrošnikov in inovacije na področju senzorične kakovosti bodo ključnega pomena za njihovo sprejetje na trgu. Z razumevanjem njihove funkcionalnosti in optimizacijo njihove uporabe v živilskih aplikacijah lahko dosežemo dvojni cilj trajnostne prehrane in inovacij izdelkov.

3 VIRI

- Aliabbasi N., Diosady L. L., Emam-Djomeh Z. 2024. Purification and Characterization of Pinto Bean Protein Using Membrane Technology. *Food Science & Nutrition*, 12(12), 10592-10604. doi:10.1002/fsn3.4511
- Bailey H. M., Stein H. H. 2019. Can the digestible indispensable amino acid score methodology decrease protein malnutrition. *Animal Frontiers*, 9(4), 18-23. doi:10.1093/af/vfz038
- Barac M. B., Pesic M. B., Stanojevic S. P., Kostic A. Z., Bivolarevic V. 2015. Comparative study of the functional properties of three legume seed isolates: adzuki, pea and soy bean. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2779-2787. doi:10.1007/s13197-014-1298-6
- Bedsaul-Fryer J. R., Monroy-Gomez J., van Zutphen-Küffer K. G., Kraemer K. 2024. An Introduction to Traditional and Novel Alternative Proteins for Low- and Middle-Income Countries. *Current Developments in Nutrition*, 8, 102014. doi:10.1016/j.cdnut.2023.102014
- Chandran A. S., Kashyap P., Thakur M. 2024. Effect of extraction methods on functional properties of plant proteins: A review. *eFood*, 5(3), e151. doi:10.1002/efd2.151
- Chandran A. S., Suri S., Choudhary P. 2023. Sustainable plant protein: an up-to-date overview of sources, extraction techniques and utilization. *Sustainable Food Technology*, 1(4), 466-483. doi:10.1039/D3FB00003F
- Day, L., Cakebread, J. A., Loveday, S. M. 2022. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 428-442. doi:10.1016/j.tifs.2021.12.020
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. 2014. Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes. *EFSA Journal*, 12(11), 3894. doi:10.2903/j.efsa.2014.3894
- Etzbach L., Gola S., Küllmer F., Acir I.-H., Wohlt D., Ignatzky L. M., ... Schweiggert-Weisz, U. 2024. Opportunities and challenges of plant proteins as functional ingredients for food production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(50), e2319019121. doi:10.1073/pnas.2319019121
- Grossmann L., McClements D. J. 2023. Current insights into protein solubility: A review of its importance for alternative proteins. *Food Hydrocolloids*, 137, 108416. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108416
- Gu J., Bk A., Wu H., Lu P., Nawaz A.M., Barrow J.C., Dunshea F.R., Suleria H. A. R. 2023. Impact of processing and storage on protein digestibility and bioavailability of legumes. *Food Reviews International*, 39(7), 4697-4724. doi:10.1080/87559129.2022.2039690
- Hadidi M., Aghababaei F., McClements D. J. 2023. Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*, 145, 109132. doi:10.1016/j.foodhyd.2023.109132
- Hewage A., Olatunde O. O., Nimalaratne C., Malalgoda M., Aluko R. E., Bandara N. 2022. Novel Extraction technologies for developing plant protein ingredients with improved functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 492-511. doi:10.1016/j.tifs.2022.10.016
- Immonen M., Myllyviita J., Sontag-Strohm T., Myllärinen P. 2021. Oat Protein Concentrates with Improved Solubility Produced by an Enzyme-Aided Ultrafiltration Extraction Method. *Foods*, 10(12). doi:10.3390/foods10123050
- Kraak V. I., Aschemann-Witzel J. 2024. The Future of Plant-Based Diets: Aligning Healthy Marketplace Choices with Equitable, Resilient, and Sustainable Food Systems. 45(Volume 45, 2024), 253-275. doi:10.1146/annurev-publhealth-060722-032021
- Kraak V. I., Consavage Stanley K. 2023. An economic lens for sustainable dietary guidelines. *The Lancet Planetary Health*, 7(5), e350-e351. doi:10.1016/S2542-5196(23)00075-X

- Kumar M., Tomar M., Potkule J., Verma R., Punia S., Mahapatra A., ... Kennedy J. F. 2021. Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106595
- Kumar M., Tomar M., Punia S., Dhakane-Lad J., Dhumal S., Changan S., ... Kennedy J. F. 2022. Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. *LWT*, 154, 112620. doi:10.1016/j.lwt.2021.112620
- Kyriakopoulou K., Keppler J. K., van der Goot A. J. 2021. Functionality of ingredients and additives in plant-based meat analogues. *Foods*, 10(3). doi:10.3390/foods10030600
- Ma K. K., Greis M., Lu J., Nolden A. A., McClements D. J., Kinchla A. J. 2022. Functional Performance of Plant Proteins. *Foods*, 11(4). doi:10.3390/foods11040594
- Ma Y., Chen F. 2023. Plant Protein Heat-Induced Gels: Formation Mechanisms and Regulatory Strategies. *Coatings*, 13(11). doi:10.3390/coatings13111899
- Mariotti F. 2019. Animal and Plant Protein Sources and Cardiometabolic Health. *Advances in Nutrition*, 10, S351-S366. doi:10.1093/advances/nmy110
- Merlo M., Hennessy T., Buckley C., O'Mahony J. 2024. A comparison of animal and plant-based proteins from an economic, environmental, and nutritional perspective in the Republic of Ireland. *Agricultural Systems*, 221, 104143. doi:10.1016/j.agsy.2024.104143
- Moll P., Hanna S., Oskar S., Christophe S., Weiss J. 2023. Characterization of soluble and insoluble fractions obtained from a commercial pea protein isolate. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 44(13), 2417-2428. doi:10.1080/01932691.2022.2093214
- Möller A. C., van der Padt A., van der Goot A. J. 2022. Influence of the fractionation method on the protein composition and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 81, 103144. doi:10.1016/j.ifset.2022.103144
- Munialo C. D. 2024. A review of alternative plant protein sources, their extraction, functional characterisation, application, nutritional value and pinch points to being the solution to sustainable food production. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 462-472. doi:10.1111/ijfs.16467
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106789
- Poutanen K. S., Kårlund A. O., Gómez-Gallego C., Johansson D. P., Scheers N. M., Marklinder I. M., ... Landberg R. 2022. Grains – a major source of sustainable protein for health. *Nutrition Reviews*, 80(6), 1648-1663. doi:10.1093/nutrit/nuab084
- Pulivarthi M. K., Buenavista R. M., Bangar S. P., Li Y., Pordesimo L. O., Bean S. R., Siliveru K. 2023. Dry fractionation process operations in the production of protein concentrates: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(6), 4670-4697. doi:10.1111/1541-4337.13237
- Ramaswamy R., Bala Krishnan S. 2024. Pulsed Electric Field Treatment in Extracting Proteins from Legumes: A Review. *Processes*, 12(12). doi:10.3390/pr12122667
- Rivera J., Kaliramesh S., Li Y. 2024. A comprehensive review on pulse protein fractionation and extraction: processes, functionality, and food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(13), 4179-4201. doi:10.1080/10408398.2022.2139223
- Roland W. S. U., Pouvreau L., Curran J., van de Velde F., de Kok P. M. T. 2017. Flavor Aspects of Pulse Ingredients. *Cereal Chemistry*, 94(1), 58-65. doi:10.1094/CCHEM-06-16-0161-FI
- Shanthakumar P., Klepacka J., Bains A., Chawla P., Dhull S. B., Najda A. 2022. The Current Situation of Pea Protein and Its Application in the Food Industry. *Molecules*, 27(16). doi:10.3390/molecules27165354
- Shawky E., Zhu W., Tian J. 2025. A review of innovative extraction technologies for protein recovery from plant-based by-products: A step toward zero-waste processing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144301. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.144301
- Sinha J. P., Kumar A., Weissmann E. 2023. Seed Processing for Quality Upgradation. In M. Dadlani & D. K. Yadava (Eds.), *Seed Science and Technology: Biology, Production, Quality* (pp. 213-237). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Tan M., Adil N. M., Buckow R. 2023. Functional and food application of plant proteins – a review. *Food Reviews International*, 39(5), 2428-2456. doi:10.1080/87559129.2021.1955918
- Wouters A. G. B., Rombouts I., Fierens E., Brijs K., Delcour J. A. 2016. Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 786-800. doi:10.1111/1541-4337.12209

- Yu S., Wu Y., Li Z., Wang C., Zhang D., Wang L. 2023. Effect of different milling methods on physicochemical and functional properties of mung bean flour. *Frontiers in Nutrition*, 10. doi:10.3389/fnut.2023.1117385
- Zhu H., Wang L., Li X., Shi J., Scanlon M., Xue S., ... Vafaei N. 2024. Canola Seed Protein: Pretreatment, Extraction, Structure, Physicochemical and Functional Characteristics. *Foods*, 13(9). doi:10.3390/foods13091357

OHRANITEV TRADICIONALNIH FERMENTACIJ ŽIVIL Z INOVATIVNIM PRISTOPOM: PRIMER JABOLČNO VINO

Neža ČADEŽ¹ in Tatjana KOŠMERL²

Povzetek: Fermentacija je eden najstarejših načinov konzerviranja živil, ki poleg podaljšane obstojnosti zagotavlja bogate senzorične in funkcionalne lastnosti. Tradicionalna fermentirana živila, vključno z jabolčnim vinom, so pomemben del kulturne dediščine in se razvijajo z napredkom tehnologije. Na oddaljenih kmetijah na Koroškem jabolčno vino še vedno pridelujejo tradicionalno, s spontano fermentacijo in večinoma leseno opremo za predelavo iz starih sort jabolk. Vzorčili smo jabolčno vino po zaključeni fermentaciji na enajstih oddaljenih kmetijah in določili vrstno sestavo mikrobnih združb jabolčnih vin in jih povezali z njihovimi fizikalno kemijskimi lastnostmi. V večini vin so štiri vrste mikroorganizmov, tri vrste kvasovk *Saccharomyces uvarum*, *Kregervanrija fluxuum* in *Dekkera bruxellensis*, ter mlečnokislinska bakterija *Oenococcus oeni*, ki so imele velik vpliv na oblikovanje kemijskih lastnosti jabolčnega vina. Podobno fermentacijo jabolčnih vin smo nato ponovili v laboratorijskih pogojih, s posamičnimi in združenimi starterskimi kulturami avtohtonih sevov. Odkrili smo, da so vrste/sevi v medsebojni odvisnosti, kar vpliva tudi na kinetiko fermentacij. Z zbranim znanjem na eni strani prispevamo k ohranjanju tradicionalnih fermentiranih izdelkov, na drugi pa nam razumevanje medvrstnih interakcij omogoča nadzor nad tovrstnimi procesi, kar zagotavlja varen in predvidljiv bioproces. Te kulture lahko nato uporabimo kot nove proizvodne mikroorganizme, ki jih lahko s procesom adaptivne laboratorijske evolucije (ALE) prilagodimo na nove substrate pod industrijskimi pogoji in s tem razvijemo nove fermentirane pijače, kot je na primer brezglutensko ajdovo pivo.

Ključne besede: tradicionalni fermentirani izdelki, jabolčno vino, mikrobnе združbe, starterske kulture, kemijska sestava

PRESERVING TRADITIONAL FOOD FERMENTATIONS WITH AN INNOVATIVE APPROACH: THE EXAMPLE OF APPLE WINE

Abstract: Fermentation is one of the oldest methods of food preservation, which not only extends shelf life but also provides rich sensory and functional properties. Traditional fermented foods, including cider, are an important part of cultural heritage and continue to evolve with technological advancements. On remote farms in the Koroška region, cider is still made in the traditional way - by spontaneous fermentation and mostly with wooden processing equipment and with old apple varieties. We took samples of cider from eleven remote farms after fermentation was completed and identified the species composition of the microbial communities in the ciders and related them to their physicochemical properties. Four types of microorganisms dominated in most of the ciders: three yeast species *Saccharomyces uvarum*, *Kregervanrija fluxuum* and *Dekkera bruxellensis* and the lactic acid bacterium *Oenococcus oeni*, all of which had a significant impact on the chemical properties of the cider. We then replicated a similar cider fermentation under laboratory conditions using single and mixed starter cultures of indigenous strains. We found that the species/strains are interdependent, which also affects the fermentation kinetics. With the knowledge we have gained, we are contributing to the preservation of traditional fermented products. On the other hand, understanding the interactions between species allows us to control such processes and ensure a safe and predictable bioprocess. These cultures can then be used as new production microorganisms that can be adapted to new substrates under industrial conditions through adaptive laboratory evolution (ALE), leading to the development of new fermented beverages such as gluten-free buckwheat beer.

Keywords: traditional fermented products, cider, microbial communities, chemical profile

¹ izr. prof. 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

Fermentacija živil je že več kot 12.000 let star način konzerviranja surovin in s tem zagotavljanja njihove varnosti, ki pa se je ohranila do danes predvsem zaradi cenjenih senzoričnih in funkcionalnih lastnosti takih živil. Skozi tisočletja so fermentirana živila postala del kulturne dediščine tako v vsakdanji prehrani kot v okviru prazničnih običajev. Kljub temu pa dediščina pridelave tradicionalnih fermentiranih živil ni ostala nespremenjena skozi stoletja zgodovinskega razvoja, temveč se spreminja skozi čas in s tehnološkim napredkom. Pričevanja in vpogledi v to kulturno dediščino lahko predstavljajo odlično izhodišče za inovativno razumevanje pomena in vloge tradicionalnih fermentacij živil v našem življenju.

Razumevanje procesa fermentacije živil in vloge mikroorganizmov v tem procesu je leta 1856 pojasnil Louis Pasteur, prvo »zdravstveno trditev« pa je postavil leta 1910 Elie Metchnikoff, ki je uživanju fermentiranega mleka pripisal ohranjanje zdravja in dolgo življenjsko dobo. Od tedaj se je spremenila tudi metodologija proučevanja mikroorganizmov fermentiranih živil: od opazovanja z mikroskopom in fenotipske karakterizacije posameznih izolatov, do visoko-zmogljive fenotipizacije in sodobnih tehnologij sekvenciranja genomov mikroorganizmov – vse to omogoča natančno proučitev procesa fermentacije kot mikrobnega ekosistema in poznavanje vloge ter pomena vsakega seva mikroorganizma v njem (Mukherjee in sod., 2023).

2 TRADICIONALNI POSTOPKI FERMENTACIJE: JABOLČNO VINO

Jabolčno vino je priljubljena alkoholna pijača po vsem svetu, proizvedena s spontano fermentacijo jabolčnega soka, pri čemer v nobeni fazi tehnološkega postopka ni dodan destilirani alkohol (AICV, 2018). Na svetovnem tržišču pod imenom 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. Poraba jabolčnega vina je v zadnjih letih v precejšnjem porastu, s 5 % pričakovano letno stopnjo rasti. Globalno – tržni potencial te pijače kaže, da je bila leta 2024 vrednost trga ocenjena na približno 5,15 milijarde ameriških dolarjev (GrandViewResearch, 2025).

Evropa je največja proizvajalka jabolčnega vina na svetu, ki pa se razlikuje od države do države. Francija je znana po penecih, lahkih jabolčnih vinih, narejenih iz jabolk in hrušk ter polnjenih v elegantne steklenice, podobne tistim za peneca vina (Villière in sod., 2015). V Španiji so jabolčna vina pogosto obogatena s kompleksnimi aromami, kot so zelena jabolka, med, slive in vanilja (Lobo in sod., 2016). V Združenem kraljestvu pridelovalci uporabljajo tradicionalne postopke, bodisi iz visoko kakovostnih jabolk bodisi iz jabolčnega koncentrata. Njihov »cider« je prepoznaven po višji alkoholni stopnji in temnejši barvi (Morrissey in sod., 2015). V Sloveniji je proizvodnja jabolčnega vina največ zastopana v severnem delu države, kjer podnebne razmere ne omogočajo pridelave vina (Vidrih in Hribar, 1999). Na Koroškem kmetje pridelujejo jabolčno vino ki ga poimenujejo »mošt«, s spontano fermentacijo iz starih sort jabolk in z leseno kletarsko opremo. V našem delu smo določili sestavo mikrobnih združb tradicionalnih fermentacij jabolčnega vina, vzorčenega na oddaljenih kmetijah na Koroškem, z namenom opredelitve njihove biotske raznovrstnosti ter vpliva sestave združb na kemijske in senzorične lastnosti teh vin. Z zbranim znanjem na eni strani prispevamo k ohranjanju tradicionalnih fermentiranih izdelkov, na drugi pa nam razumevanje medvrstnih interakcij omogoča nadzor nad tovrstnimi procesi, kar zagotavlja varen in predvidljiv bioproces. Te kulture lahko nato uporabimo kot nove proizvodne mikroorganizme, ki jih lahko s procesom adaptivne laboratorijske evolucije (ALE) prilagodimo na nove substrate pod industrijskimi pogoji in s tem razvijemo nove fermentirane pijače, kot je na primer brezglutensko ajdovo pivo.

2.1 VZORČENJE JABOLČNIH VIN NA KOROŠKEM

Vzorčenje je potekalo v času pozne zime do zgodnje pomladi, in sicer od začetka marca do začetka aprila na srednje- in višje ležečih kmetijah na Koroškem. Vzorčili smo jabolčno vino po zaključeni fermentaciji, namenjeno uživanju, ter bris odprtine na vrhu soda oz. pipe za točenje, v katerem je bilo shranjeno jabolčno vino. Vzorce jabolčnega vina smo odvzeli na enajstih lokacijah, vzorce brisov pa sočasno z vzorci jabolčnega vina na devetih lokacijah. V Preglednici 1 so prikazani geografski podatki o legi kmetij, podatki o sortah uporabljenih jabolk in

predelovalni opremi. Na večini kmetij pridelujejo več sort jabolk, kot so Bobovec, Carjevič, Mošancelj, Lesnika, Krivopecelj, Topaz, Kanadka in druge, nekateri pridelujejo tudi Ananasovo reneto in Elstar. Večina kmetij uporablja lesene stiskalnice na hidravliko, nekatere pa lesene kasetne stiskalnice ali stiskalnice na kamen. Fermentacije so potekale večinoma v starih lesenih sodih, le nekaj jih je uporabljalo sode iz nerjavečih materialov.

Preglednica 1: Lokacijski in pridelovalni podatki o kmetijah, na katerih je potekalo vzorčenje.

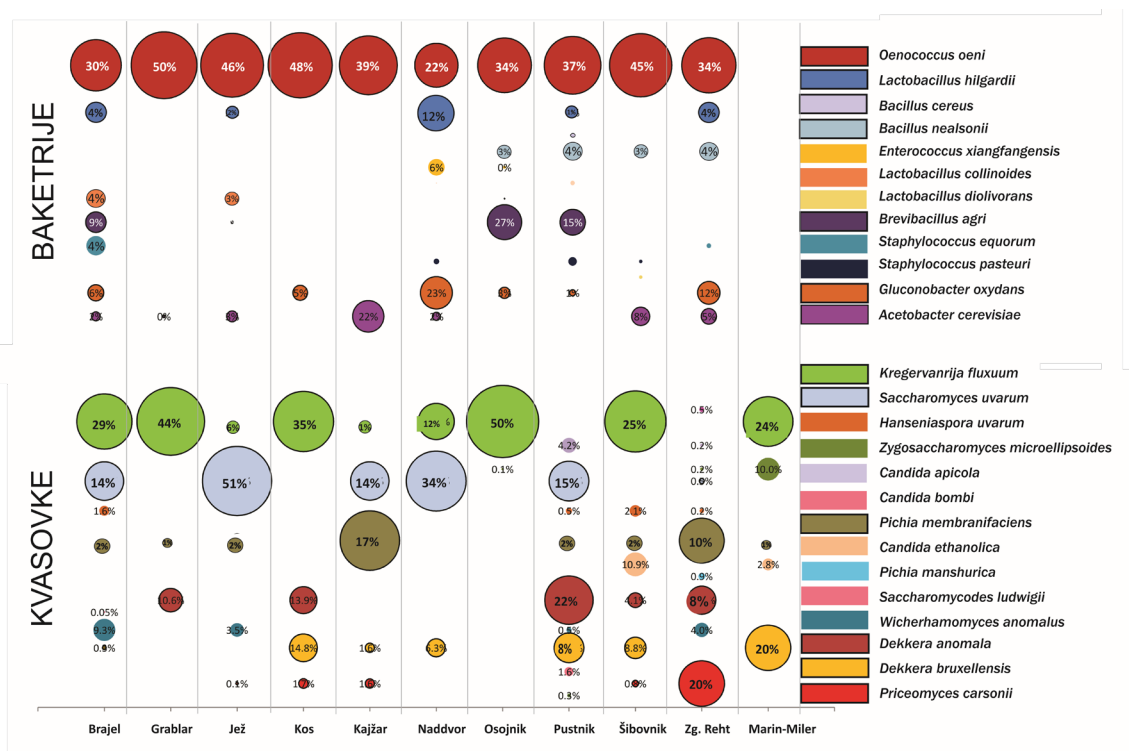
Kmetija	GPS podatki	Sorte jabolk	Način prešanja	Tip posod
Brajel	46°37'58"-38' S, 15°4'27-31" V, 800 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Krivopecelj, Mošancelj	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Grablar	46°34' 5-7" S, 14°53'21-24" V, 650 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena stiskalnica na kamen	Leseni sodi
Jež	46°31'10-11" S, 14°52'11-14" V, 700 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Kos	46°34'32-35" S, 14°53'45-49" V, 650 m nad. v.	Ananasova reneta, Bobovec, Carjevič, Lesnika, Krivopecelj, Mošancelj	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Kajžar	46°31'22-25" S, 14°51'29-32" V, 600 m nad. v.	Ananasova reneta, Bobovec, Carjevič, Lesnika, Krivopecelj, Mošancelj	Lesena stiskalnica na hidravliko	Sodi iz nerjavečih materialov
Marin-Miler	46°34'19-21" S, 14°52'34-36" V, 640 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj	Lesena kasetna stiskalnica na hidravliko	Sodi iz nerjavečih materialov
Naddvor	46°31'59"-32'2" S, 14°56'38-42" V, 600 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Elstar, Lesnika, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Osojnik	46°26'25-29" S, 14°48'30-34" V, 860 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Pustnik	46°30'53-56" S, 14°51'28-32" V, 500 m nad. v.	Ananasova reneta, Bobovec, Carjevič, Domači kosmač, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena kasetna stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Zgornji Reht	46°31'37-40" S, 14°49'34-37" V, 700 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Elstar, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Topaz	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi
Šibovnik	46°31'28-32" S, 14°56'5-8" V, 500 m nad. v.	Bobovec, Carjevič, Lesnika, Kanadka, Krivopecelj, Mošancelj, Topaz	Lesena stiskalnica na hidravliko	Leseni sodi

2.2 SESTAVA MIKROBIOTE JABOLČNIH VIN IN KLETARSKE OPREME

Vzorci jabolčnih vin in brisov sodov nacepili na štiri različna trdna gojišča, in sicer YPD in DRBC s kloramfenikolom za rast kvasovk, MRS s cikloheksimidom za rast mlečnokislinskih bakterij in gojišče po Frauterju za rast kvasovk in bakterij, v pogojih, podobnim tistim v jabolčnem vinu. Povprečno število kolonijskih enot (CFU/mL) kvasovk in bakterij je med kmetijami precej odstopalo, kar kaže tako na raznolikost fermentacijskih pogojev, kot tudi na različno stopnjo higiene in uporabo različne opreme na posameznih kmetijah. Največje število kvasovk je bilo ugotovljeno v vzorcu s kmetije Pustnik ($1,02 \times 10^5$ CFU/mL), najmanjše pa v vzorcu Šibovnik ($4,13 \times 10^3$ CFU/mL), kar predstavlja razliko dveh logaritamskih enot. Podobno odstopanje smo določili pri gostoti bakterijskih populacij, saj smo določili največjo število bakterijskih kolonij v vzorcu s kmetije Grablar ($3,00 \times 10^6$ CFU/mL), najmanjšo pa s kmetije Šibovnik ($6,41 \times 10^3$ CFU/mL).

Podobno raznolika je bila tudi vrstna sestava mikrobnih združb jabolčnih vin (Slika 1), kjer so večinoma prevladovali tri vrste mikroorganizmov, kvasovki *Kregervanija fluxuum* in *Saccharomyces uvarum*, ter

mlečnokislinska bakterija *Oenococcus oeni*. Kljub temu da je vrsta *S. uvarum* odgovorna za alkoholno fermentacijo, je bila le-ta večinoma zastopana v manjšem deležu kot *K. fluxuum*, ki pretvarja sladkorje le do glicerola in je prevladovala v vseh vzorcih, razen v vzorcu z lokacije Zg. Reht, kjer je imela podobno visoko zastopanost vrsta *D. bruxellensis* (39,1 %). Iz vzorca tega jabolčnega vina nismo izolirali vrst rodu *Saccharomyces*, ter obenem izolirali največje število vrst kvasovk – deset, kar nakazuje na kvar tega vina. Najmanjšo pestrost kvasovk je imel vzorec z lokacije Osojnik, v katerem smo identificirali le dve vrste kvasovk. Skupno smo izolirali 401 reprezentativno kolonijo kvasovk iz enajstih vzorcev jabolčnih vin, ki so zrastle na gojiščih YPD, in jih uvrstili v 14 različnih vrst kvasovk.



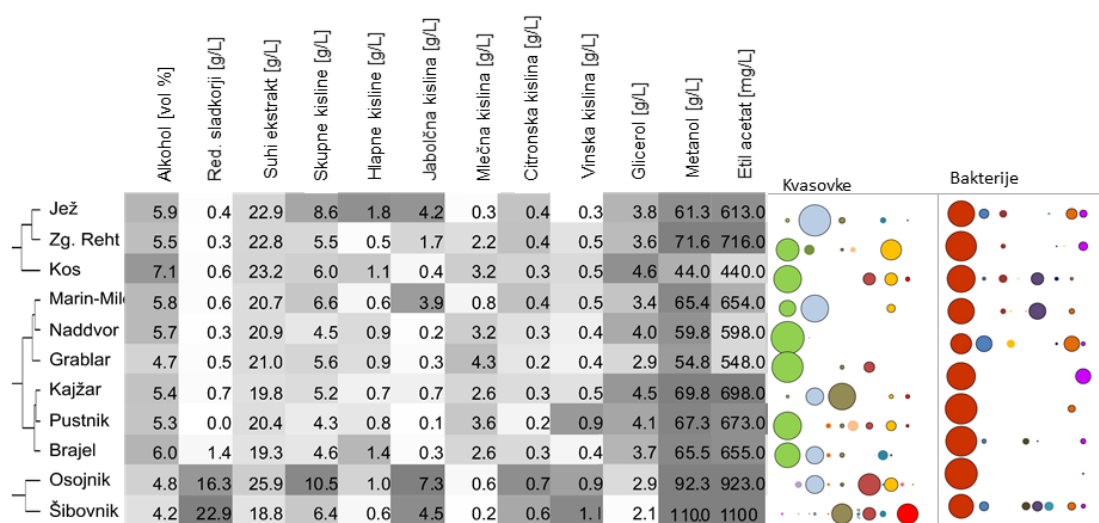
Slika 1: Sestava in relativni delež vrst bakterij in kvasovk v jabolčnih vinih s srednje- in višje-ležečih kmetij na Koroškem.

Izmed vseh 319 reprezentativnih kolonij, ki so zrastle na gojiščih MRS v anaerobnih razmerah in 94 reprezentativnih kolonij, ki so zrastle na gojiščih po Frauter v aerobnih razmerah iz enajstih vzorcev jabolčnih vin, smo skupno identificirali dvanajst vrst bakterij. V vseh vzorcih jabolčnega vina je imela najvišji delež zastopanosti vrsta *O. oeni* (od 43,2 % do 99,8 %), ki je predstavljala večinski delež prisotnih vrst v vzorcih, razen v vzorcu z lokacije Naddvor, kjer sta podoben skupni delež predstavljali vrsta očetnokislinske bakterije *Gluconobacter oxydans* in mlečnokislinska vrsta bakterije *Lactobacillus hilgardii*.

Določili smo tudi pestrost vrst kvasovk na površini sodov, odvzetih z brisom. Ugotovili smo, da je bila le-ta manjša kot pestrost vrst kvasovk v jabolčnem vinu, saj smo skupno identificirali le enajst vrst. Pri skoraj vseh vzorcih brisov površine sodov je imela najvišji delež zastopanosti vrsta *K. fluxuum* (od 72,5 % do 100,0 %), razen pri vzorcu z lokacije Brajcel, kjer je imela najvišjo zastopanost vrsta *D. bruxellensis* (88,2 %) (rezultati niso prikazani). Podobni rezultati so bili tudi pri analizi bakterijskih vrst, ki smo jih skupno identificirali 15. Na osmih od enajstih lokacij je prevladovala vrsta *O. oeni* (36,4–100 %), na drugih lokacijah pa so bile prevladujoče vrste *Acetobacter persici* ali zbruzba vrst *Staphylococcus equorum*, *Bacillus nealsonii*, *Lactobacillus collinoides* ali vrsta *Brevibacillus agri*. Z izjemo vrste *O. oeni*, lahko prevladujočo mikrobioto štejemo za potencialne kvarljivce jabolčnega vina.

2.3 KEMIJSKI PARAMETRI TRADICIONALNIH JABOLČNIH VIN

Vzorcem jabolčnih vin smo določili fizikalno-kemijske parametre z analizo WineScan™ (KGZ Nova Gorica), kateri rezultati so prikazani na Sliki 2. Izrazito sta izstopala vzorca iz kmetij Osojnik in Šibovnik, ki sta imela glede na ostale vzorce povečane vsebnosti skupnega suhega ekstrakta (42,16 g/L in 41,68 g/L), reducirajočih sladkorjev (16,30 g/L in 22,92 g/L), sladkorja prostega ekstrakta (25,86 g/L in 18,76 g/L) ter raztopljenega CO₂ (923 mg/L in 1100 mg/L) in etil acetata (92,3 mg/L in 110,0 mg/L), kar v tako velikih koncentracijah neugodno vpliva na vonj/okus jabolčnega vina. Kemijski parametri nakazujejo na pojav upočasnjene oz. zaustavljene fermentacije, kar smo povezali s prisotnostjo vrst kot so *Priceomyces carsonii* (lokacija Šibovnik) in *Dekkera anomala* (lokacija Osojnik). Ena izmed posebnosti teh dveh vzorcev je tudi ta, da pri nobenem nismo identificirali prisotnosti sicer najpogostejše kvasovke *K. fluxuum*. Iz tega podatka bi lahko sklepali, da ima vrsta *K. fluxuum* pomembno vlogo pri poteku alkoholne fermentacije, kljub temu da sama ni fermentativna. Možno je, da izloča sekundarne produkte, ki jih uporabijo vrste rodu *Saccharomyces* oz. da proizvaja spojine, ki neugodno vplivajo na rast drugih nefermentativnih vrst.



Slika 2: Podobnost tradicionalnih jabolčnih vin glede na fizikalno-kemijske parametre v povezavi s številčnostjo populacij vrst kvasovk in bakterij.

Ker so rezultati fizikalno-kemijske analize nakazovali na povečano vsebnost skupnih fenolov (Preglednica 2) in zaradi prisotnih vrst *Dekkera anomala* in *D. bruxellensis*, smo z analizo HPLC določili vsebnost štirih hlapnih fenolov v vzorcih jabolčnih vin, to so 4-vinilfenol (4-VF), 4-vinilgvajakol (4-VG), 4-etilfenol (4-EF) in 4-etilgvajakol (4-EG), ki v večjih koncentracijah neugodno vplivajo na vonj in okus jabolčnega vina. Ugotovili smo, da so koncentracije hlapnih fenolov, predvsem etilfenola in etilgvajakola, v vseh vzorcih povečane. Senzorični panel je vonj po hlapnih fenolih zaznal predvsem v primeru vzorca z lokacije Osojnik, zato lahko glede na podatke o pragu zaznave hlapnih fenolov in rezultatih HPLC za vse vzorce jabolčnih vin rečemo, da gre za ekstraktno bogata jabolčna vina, saj so vsebnosti hlapnih fenolov zelo velike glede na določene meje zaznave. V vseh vzorcih z večjimi koncentracijami 4-EF so bile v večjih koncentracijah prisotne vrste rodu *Dekkera*, ki sodelujejo v sintezi hlapnih fenolov.

Preglednica 2. Koncentracije hlapnih fenolov v vzorcih jabolčnih vin iz različnih lokacij.

Hlapni fenoli \ Kmetija ^a	B	G	J ^b	K	Ka	MM	N	O	P	R	Š
4-vinilfenol [mg/L]	0,3	0	/	0	0	0	0	1,6	0	0	0,8
4-vinilgvajakol [mg/L]	0	0	/	0	0	0	0	0	0	0	0,6
4-etilfenol [mg/L]	3,9	2,8	/	6,7	3,9	5,0	2,1	11,5	7,9	10,3	0,6
4-etilgvajakol [mg/L]	1,5	5,9	/	3,8	1,0	1,7	0,4	1,7	3,3	3,8	0,3

^a Kmetija: B, Brajel; G, Grablar J, Jež K, Kos Ka, Kajžar; MM, Marin-Miler; N, Naddvor; O, Osojnik; P, Pustnik; R, Zgornji Reht; Š, Šibovnik

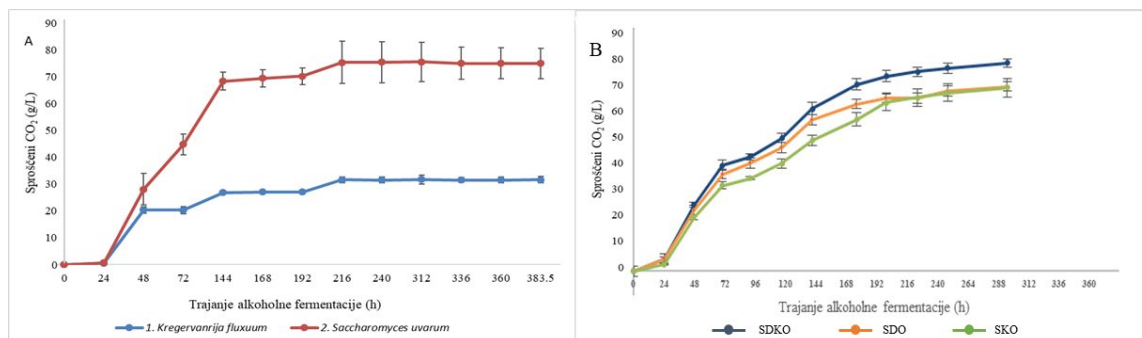
^bNi podatka.

Na podlagi predstavljenih rezultatov lahko zaključimo, da ima vrstna sestava mikrobnih združb in njihov metabolični potencial velik pomen pri oblikovanju lastnosti tradicionalnega fermentiranega izdelka, kot je jabolčno vino. Ključna za uspešno fermentacijo je vrsta *S. uvarum*, ki prispeva k povečani vsebnosti etanola in s tem zavre razrast številnih, nezaželenih vrst. Mlečnokislinske bakterije povezujemo s prisotnostjo milejše mlečne kisline, ki jo proizvedejo iz jabolčne kisline v jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji. Obenem tudi skupni fenoli in ostale organske kisline močno vplivajo na kakovost končnega izdelka.

Za določitev vloge prevladujočih vrst na kakovost jabolčnih vin smo izvedli fermentacije jabolčnega soka z eno- in več-vrstnimi staterskimi kulturami. Na ta način lahko proces fermentacije vodimo nadzorovano ter zagotovimo predvidljivo kakovost in varnost proizvoda.

2.4 FERMENTACIJE JABOLČNEGA SOKA S POSAMIČNIMI IN ZDRUŽENIMI STARTERSKIMI KULTURAMI

Uporaba posamičnih starterskih kultur kvasovk, običajno v aktivni suhi obliki, zagotavlja koristno orodje za standardizacijo fermentiranih izdelkov (Valles in sod., 2005). Zato smo prvi sklop fermentacij izvedli s posamičnimi kulturami *S. uvarum* in *K. fluxuum* (Slika 3A). Fermentirano jabolčno vino s *S. uvarum* je bilo po Pravilniku o pogojih ... (2004) sodilo v kategorijo suhih vin, kar je pomenilo uspešno zaključeno fermentacijo. Na drugi strani je jabolčno »vino« po fermentaciji s *K. fluxuum* vsebovalo velik delež preostalih sladkorjev (80 %), večjo vsebnost glicerola (9 g/L), ter ni proizvedla etanola, kar je posledica dejstva, da kvasovke vrste *K. fluxuum* pod anaerobnimi pogoji tvorijo glicerol za vzdrževanje redoks potenciala (Domizio in sod., 2011). Značilne so bile tudi velike koncentracije jabolčne, vinske in glukonske kisline, po čemer se je statistično razlikovala od jabolčnih vin pridelanih s *S. uvarum*.



Slika 3: Kinetika fermentacije jabolčnega soka inokuliranega s posamičnimi kulturama *Saccharomyces uvarum* in *Kregervanrija fluxuum* in združenimi kulturami SDKO, SDO in SKO.

SDKO, *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *K. fluxuum*, *O. oeni*, SDO, *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni*, SKO, *S. uvarum*, *K. fluxuum*, *O. oeni*

Fermentacije jabolčnega soka z združenimi starterskimi kulturami so potekale s podobno, nekoliko počasnejšo kinetiko v primerjavi s posamično kulturo *S. uvarum* (Slika 3B). Podrobneje, kinetiki fermentacij združenih kultur *Saccharomyces uvarum*, *K. fluxuum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni* (SKDO) in *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni* (SDO) sta bili na začetku identični, vendar se je sredini log faze fermentacija z SDO upočasnila. AF pri združeni kulturi *S. uvarum*, *K. fluxuum*, *O. oeni* (SKO), brez dodane *D. bruxellensis*, je potekala manj intenzivno, faza prilagajanja pa je bila malenkost daljša v primerjavi z ostalima dvema fermentacijama.

V Preglednici 3 so predstavljeni fizikalno-kemijski parametri jabolčnih vin fermentiranih z združenimi starterskimi kulturami. Jabolčno vino fermentirano z SKDO je imelo največjo vsebnost skupnih kislin in citronske kisline, v primerjavi z SKO in SDO. Skupne kisline oz. kislost so predstavljajo esencialen element jabolčnega vina in morajo biti v zadostni količini, da dajejo končnemu izdelku čist, osvežujoč vtis (Braga in sod., 2013). To jabolčno vino je vsebovalo tudi največjo vsebnost metanola, kar je posledica pektinolitične aktivnosti vseh treh vrst kvasovk, ki predstavljajo združeno startersko kulturo SKDO. Metanol ni produkt fermentacije kvasovk,

ampak se ta hlapna spojina odcepi od pektina, njegova koncentracija je odvisna od sorte jabolk, stopnje zrelosti in enološke prakse (Suárez in sod., 2005).

Jabolčno vino fermentirano s SKO je imelo največjo koncentracijo alkohola in glicerola, ki predstavlja nehlapno spojino, vendar zaradi viskozne narave in sladkega okusa, prispeva h sladkosti, ter daje telo in polnost okusa (Steensels in sod., 2015). Rast in metabolno delovanje *K. fluxuum* med fermentacijo potrjuje te kemijske značilnosti jabolčnega vina s SKO. Jabolčno vino fermentirano s SDO pa so vsebovala najmanjšo koncentracijo glicerola in največje vrednosti hlapnih kislin. Zaradi slednjega smo v nadaljevanju analizirali dinamiko rasti posameznih vrst kvasovk in mlečnokislinske bakterije.

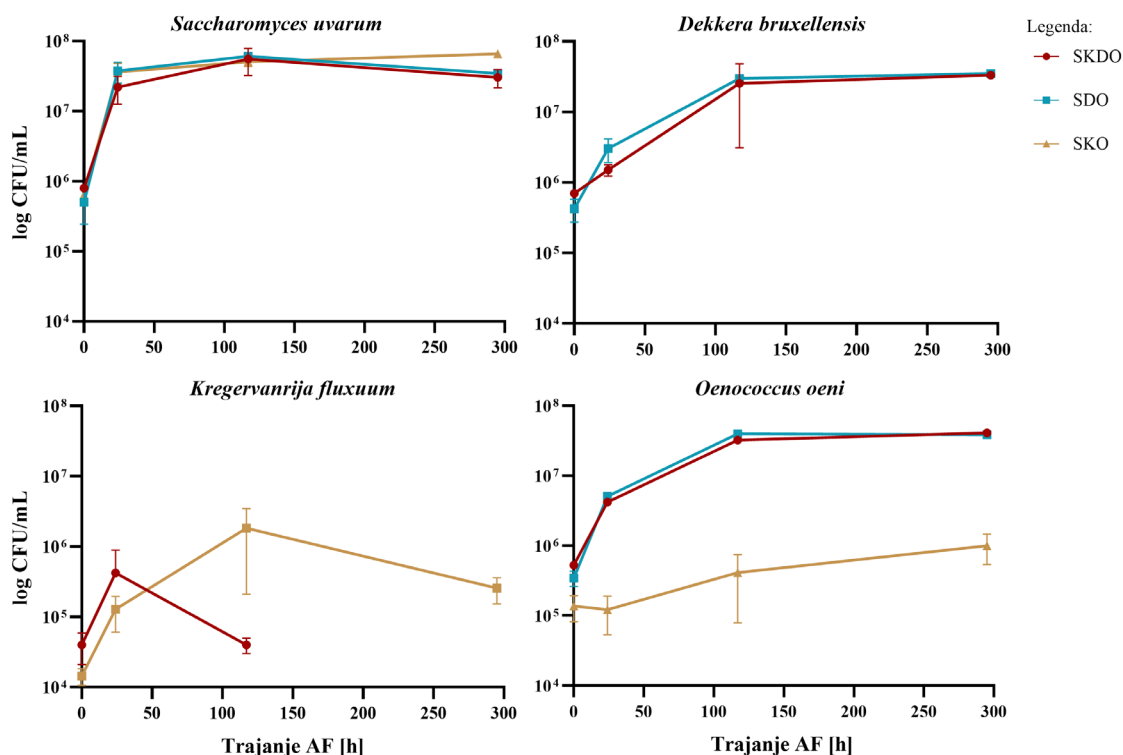
Preglednica 1: Fizikalno-kemijski parametri vzorcev jabolčnega vina z združenimi kulturami *Kregervanrija fluxuum*, *Saccharomyces uvarum*, *Dekkera bruxellensis* in *Oenococcus oeni*.

Parameter	Fermentacija		
	SKDO ^a	SDO ^b	SKO ^c
Citronska kislina [g/L]	0,43 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,42 ± 0,0
Vinska kislina [g/L]	2,6 ± 0,08	2,70 ± 0,16	2,80 ± 0,14
Glicerol [g/L]	6,88 ± 0,11	6,82 ± 0,10	7,07 ± 0,02
Metanol [g/L]	0,16 ± 0,0	0,14 ± 0,0	0,14 ± 0,0
Indeks FC ^d [/]	21,59 ± 0,23	24,55 ± 0,55	24,77 ± 0,41
Alkohol [vol. %]	4,95 ± 0,10	5,20 ± 0,01	5,25 ± 0,03
Skupni suhi ekstrakt [g/L]	26,16 ± 0,33	25,34 ± 0,04	25,88 ± 0,08
Reducirajoči sladkorji [g/L]	2,72 ± 0,11	2,60 ± 0,08	2,61 ± 0,02
Skupne kisline [g/L]	10,41 ± 0,23	9,84 ± 0,04	9,95 ± 0,09
Hlapne kisline [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
Jabolčna kislina [g/L]	6,70 ± 0,14	6,78 ± 0,02	6,94 ± 0,11
Raztopljeni CO ₂ [mg/L]	487 ± 72,2	414,67 ± 0,94	461,67 ± 45,51

^aSKDO, *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *K. fluxuum*, *O. oeni*, ^bSDO, *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni*,

^cSKO, *S. uvarum*, *K. fluxuum*, *O. oeni*; ^d Indeks FC, ocena vsebnosti fenolov.

Za določitev interakcij med posameznimi vrstami združene starterske kulture, smo z nacepljanjem redčitvene vrste fermentirajočega grozdnega soka na diferencialno gojišče WLN v štirih časovnih točkah določili kinetiko rasti posamezne vrste kvasovk *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *K. fluxuum* in *O. oeni* (Slika 4). Na grafu rasti *O. oeni* je očitno, da le-ta značilno bolje raste ob prisotnosti vrste *D. bruxellensis* kot ob prisotnosti *K. fluxuum*, kar nakazuje na to, da *D. bruxellensis* proizvaja določene rastne faktorje oz. ustvarja anaerobne pogoje, ki omogoča rast *O. oeni*. Zato lahko zaključimo, da je prisotnost *D. bruxellensis* ključna za jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo vrste *O. oeni*, kar lahko ključno vpliva na aromo jabolčnega vina (Li in sod., 2020).



Slika 4. Dinamika posamezne vrste med fermentacijo jabolčnega soka z združenimi starterskimi kulturami SKDO (*S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *K. fluxuum*, *O. oeni*), SDO (*S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni*) in SKO, (*S. uvarum*, *K. fluxuum*, *O. oeni*).

3 ZAKLJUČEK

Ker je genetska raznolikost sevov, ki jih uporabljamo kot starterske kulture za proizvodnjo fermentiranih izdelkov majhna, predstavljajo predstavljeni mikrobní sevi iz tradicionalnih slovenskih fermentacij dragocen vir genetske raznolikosti. Ta se odraža v njihovi sposobnosti za tvorbo kompleksnejših ali vsaj drugačnih aromatskih profilov fermentiranih živilskih izdelkov. Kot inovativno nadaljevanje predstavljene študije, smo namreč izbrani sev iz kompleksne mikrobne združbe slovenskega jabolčnega vina nadalje prilagodili na specifičen tip piva – brezglutensko ajdovo pivo – z uporabo metode adaptivne laboratorijske evolucije (ALE). Proces genetske prilagoditve seva na nov substrat je vključeval 30 zaporednih fermentacij v stresnih pogojih, ki posnemajo industrijsko fermentacijo. Genetsko raznolike variante starševskega seva po evoluciji smo nato proučili z vidika mehanizmov genetske prilagoditev na ajdovo pivino in ovrednotili njihovo sposobnost fermentacije v laboratorijskih razmerah, s poudarkom na primerjavi aromatičnega profila končne, 30. fermentacije v primerjavi z izhodno. Rezultati ponujajo nov vpogled v genetske mehanizme prilagajanja kvasovk različnim pivovarskim razmeram in prispevajo k nadaljnjemu razvoju metod za izboljšanje mikrobni sevov, namenjenih proizvodnji inovativnih živilskih izdelkov v industrijskem merilu.

4 VIRI

- Association of the Cider and Fruit Wine Industry of the European Union. <http://www.aicv.org>. (15.04.2025).
- Braga C. M., Zielinski A. A. F., da Silva K. M., de Souza F. K. F., Pietrowski G. D. A. M., Couto M., Nogueira A. 2013. Classification of juices and fermented beverages made from unripe, ripe and senescent apples based on the aromatic profile using chemometrics. Food Chemistry, 141: 967-974, doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.007
- 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 *Saccaromyces*

- cerevisiae* for grape juice fermentation. International Journal of Food Microbiology, 147: 170-180, doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.020
- Grand View Research. Cider Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Sparkling, Still, Apple Wine), By Source (Apple, Fruit Flavored, Perry, Other Vegan Sources), By Region (North America, Europe, Asia Pacific, Latin America, MEA), And Segment Forecasts, 2025-2030. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/cider-market> (15.04.2025).
- Li C. X., Zhao X. H., Zuo W. F., Zhang T. L., Zhang Z. Y., Chen X. S. 2020. The effects of simultaneous and sequential inoculation of yeast and autochthonous *Oenococcus oeni* on the chemical composition of red-fleshed apple cider. LWT – Food Science and Technology, 124: 109184, doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109184
- 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, doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.063
- 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
- Mukherjee A., Breselge S., Dimid, E. Marco M. L., Cotter P. D. 2024. Fermented foods and gastrointestinal health: underlying mechanisms. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 21: 248-266, doi.org/10.1038/s41575-023-00869-x
- 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
- 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, doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.005
- 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, doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.008
- 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, doi.org/10.1016/j.fm.2006.04.001
- Vidrih V., Hribar J. 1999. Synthesis of higher alcohols during cider processing. Food Chemistry, 67: 287-294
- Villière A., Arvisenet G., Bauduin R., Le Quere J.-M., and Serot T. 2015. Influence of cider-making process parameters on the odourant volatile composition of hard ciders, Journal of the Institute of Brewing, 120: 95-105, doi: 10.1002/jib.197.

POMEN RASTLINSKIH AROM V PREHRANI ČLOVEKA

Erika JESENKO¹ in Emil ZLATIČ²

Povzetek: Hlapne aromatične spojine so sekundarni produkti rastlin, ki niso le interakcija med rastlinami in okoljem, temveč imajo tudi pomemben vpliv na človeško psihofizično zdravje ter na kakovost tako živilskih kot tudi neživilskih izdelkov. Glavne biosintezne poti hlapnih aromatičnih spojin v rastlinah v glavnem izhajajo iz osnovnih substratov, kot so ogljikovi hidrati, aminokisline in maščobne kisline, medtem ko so končni produkti različni alkoholi, aldehidi, estri, ketoni, terpeni in žveplove spojine. Človeški vohalni sistem lahko razlikuje med tisočimi edinstvenih arom, ki so sestavljene iz številnih hlapnih aromatičnih spojin, značilnih po nizki molekularni masi, visoki hlapnosti in majhni koncentraciji v živilih. Aroma se zaznava bodisi skozi nos (ortonazalna olfakcija) ali usta (retronazalna olfakcija), potem ko aromatične molekule dosežejo olfaktorni epitelij. Zaznavanje arom lahko sproži spremembe v možganskih aktivnostih, ki vplivajo fizično in čustveno stanje, kot tudi na kognitivne funkcije. Zaradi svojih protimikrobnih lastnosti so hlapne aromatične spojine rastlin lahko tudi pomembna komponenta zdravil in alternativne medicine, služijo pa tudi kot pomembno opozorilo pred nevarnostmi. Imajo pomemben industrijski potencial, vse od prehrane do farmacevtske industrije. V zadnjih letih se njihova vloga v trženju vse bolj poudarja, saj imajo pomemben vpliv na odločanje potrošnikov.

Ključne besede: aroma, hlapne aromatične spojine, sekundarni produkti rastlin, pomen arome, senzorična kakovost

THE IMPORTANCE OF PLANTS AROMA IN HUMAN NUTRITION

Abstract: Volatile aromatic compounds are secondary metabolites produced by plants that facilitate interactions between plants and their environment and have a significant impact on human psychophysical health as well as on the quality of food and other products. The primary biosynthetic pathways for these compounds in plants originate from basic substrates such as carbohydrates, amino acids and fatty acids and culminate in the production of various alcohols, aldehydes, esters, ketones, terpenes and sulphur compounds. The human olfactory system is able to distinguish thousands of unique aromas consisting of numerous volatile aromatic compounds characterised by their low molecular weight, high volatility and low concentration in food. Aromas are perceived either through the nose (orthonasal olfaction) or the mouth (retronasal olfaction) when aromatic molecules reach the olfactory epithelium. The perception of aromas can cause changes in brain activities that affect physical and emotional states as well as cognitive functions. Due to their antimicrobial properties, these compounds are also important ingredients in pharmaceuticals and alternative medicine and serve as important indicators of potential hazards. They have considerable industrial potential, ranging from the food to the pharmaceutical industry. In recent years, their role in marketing has been increasingly emphasised as they have a significant impact on consumer decision-making.

Keywords: aroma, volatile aromatic compounds, secondary products of plants, importance of aroma, sensory quality

¹ mag. inž. preh., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: erika.jesenko@bf.uni-lj.si

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

1 UVOD

Aroma živil ima ključno vlogo pri oblikovanju potrošniških preferenc in nakupnih odločitev, saj s svojimi senzoričnimi lastnostmi pritegne pozornost, vzbuja pozitivne občutke ter ustvarja čustveno povezanost s potrošniki. Všečna aroma tako bistveno povečuje zaznano kakovost in tržno privlačnost živil ter spodbuja potrošnike k ponovnim nakupom. Ozaveščeni potrošniki vse pogosteje dajejo prednost izdelkom z naravnimi sestavinami, kar se jasno odraža tudi v naraščajočem povpraševanju po naravnih aromah. Posebej pomembno je razlikovanje med naravnimi in sintetičnimi aromami, pri čemer imajo naravane arome zaradi zahtevnejšega pridobivanja, omejene dostopnosti surovin ter izrazitih potrošniških preferenc višjo tržno vrednost, medtem ko so sintetične arome cenovno ugodnejše ter dostopnejše za množično proizvodnjo. Naravne arome se najpogosteje pridobivajo z encimskimi procesi ali pa se ekstrahirajo iz različnih delov rastlin, kot so listi, cvetovi, korenine in plodovi (Lui in sod., 2021; Xu in sod., 2020; Jesenko in sod., 2025a).

Rastlinske arome predstavljajo kompleksne mešanice hlapnih organskih spojin, med katerimi prevladujejo terpenoidi, fenilpropanoidi, benzenoidi in derivati maščobnih kislin. Te spojine imajo ključno vlogo pri interakciji med rastlinami in njihovim okoljem, saj sodelujejo pri privabljanju opraševalcev, zaščiti pred škodljivci, ter tako krepijo obrambni mehanizem rastlin. Poleg svoje ekološke funkcije pomembno vplivajo tudi na senzorične lastnosti tako živilskih kot tudi neživilskih izdelkov. Novejše raziskave vse bolj razkrivajo, kako tesno so te naravne spojine prepletene z ekološkimi, ekonomskimi in celo družbenokulturnimi vidiki človeškega življenja, kar še dodatno potrjuje njihov širok in večplasten pomen (Abbas in sod., 2023; Sowndhararajan in Kim, 2016). Biokemijski procesi, ki omogočajo rastlinam sintezo hlapnih aromatičnih spojin, so izjemno kompleksni. Razumevanje teh procesov je pomembno za razvoj biotehnoloških rešitev, ki bi lahko pripomogle k izboljšanju zelenih lastnosti rastlin, kot so odpornost proti škodljivcem ter selektivno in večjo produkcijo specifičnih aromatičnih spojin. Za razliko od zaznavanja barve in okusa, lahko olfaktorni sistem razlikuje med tisoči edinstvenih arom. Olfaktorni sistem, ki je odgovoren za zaznavo arome, je močno povezan z možgani, kar kaže na kompleksen vpliv hlapnih aromatičnih spojin. Na človeka rastlinske arome vplivajo na več načinov, modulirajo fiziologijo, vedenje in čustveno stanje. Aroma hrane ima večplastno funkcijo: razkriva identiteto hrane, poudarja kulinarično izkušnjo, opozarja na morebitno kvarjenje živil, spodbuja prebavo in vzbuja čustvene spomine. Aroma je sestavljena iz številnih hlapnih spojin, ki so značilne po svoji nizki molekularni masi, visoki hlapnosti in njihovi izjemni majhni koncentraciji v hrani (Brann in Datta, 2020; Parker in sod., 2015). Elektroencefalografija (EEG) in druge nevrofiziološke študije so pokazale, da inhalacija arom lahko sproži spremembe v možganski aktivnosti, kar vpliva na čustveno stanje in kognitivne funkcije (Sowndhararajan in Kim, 2016). Glede na to, da je naša zaznava okolja tesno povezana z vohalnim sistemom, razumevanje, kako rastlinske arome vplivajo na naše možgane in telo, ni samo znanstveni izziv, ampak ima tudi praktične implikacije za razvoj novih terapevtskih metod, ki bi izkoriščale te naravne spojine za izboljšanje zdravja in počutja. Številne študije so že pokazale potencial aromaterapije pri zdravljenju različnih stanj, kot so anksioznost in celo nekaterih nevrodegenerativnih bolezni. Zaradi svoje sposobnosti vplivanja na človeško dožemanje in počutje se arome uporabljajo v širokem spektru živilskih in neživilskih izdelkov (Abbas in sod., 2023; Bolouri in sod., 2022).

V tem prispevku bomo raziskali večplastne učinke rastlinskih arom, pri čemer se bomo najprej osredotočili na procese biosinteze aromatičnih spojin in njihovo interakcijo s človekovim olfaktornim sistemom. V nadaljevanju bomo obravnavali njihov pomen za prehrano človeka ter izpostavili različne možnosti uporabe rastlinskih arom v prehranski industriji.

2 BIOSINTEZA HLAJNIH AROMATIČNIH SPOJIN

Biosinteza hlapnih aromatičnih spojin v rastlinah vključuje različne glavne biosintezne poti, ki kot glavne substrate uporabljajo ogljikove hidrate, maščobne kisline in aminokisline. Končni produkti teh poti so različni alkoholi, aldehidi, estri, ketoni, terpeni in žveplove spojine, ki so odgovorni za kompleksne aromatične lastnosti rastlin. Med ključnimi potmi so terpenoidna biosintezna pot ter poti, ki izhajajo iz maščobnih kislin in aminokislin (Zhang in sod., 2024; Schwab in sod., 2008; Mostafa in sod., 2022).

2.1 TERPENOIDI

Velik del aromatičnih spojin v rastlinah izvira iz terpenoidne poti, ki je razdeljena na mevalonatno (MVA) pot, aktivno v citosolu, in metileritritol 4-fosfatno (MEP) pot, aktivno v plastidih. Obe poti, čeprav se začeta z različnimi substrati (acetyl CoA ali piruvat), proizvedeta enaka terpenska prekursorja, izopentenil pirofosfat (IPP) in njegov izomer dimetilalil pirofosfat (DMAPP), ki sta osnovna enota za biosintezo terpenoidov. IPP in DMAPP se nadalje združita z delovanjem preniltransferaz v večje terpenoidne molekule (Zhang in sod., 2024; Mostafa in sod., 2022).

V naravi so terpeni in terpenoidi široko prisotni v rastlinah in predstavljajo značilne aromatične sestavine številnih sadnih arom. Terpeni in terpenoidi imajo pomembno vlogo tudi pri farmakoloških učinkih rastlinskih zelišč. Na primer, aroma citrusov izvira predvsem iz terpenov in terpenoidov, pri čemer je limonen najbolj zastopana aromatična snov v oljih citrusnih lupin, in ima antioksidativne in protivnetne lastnosti. Beta-mircen je prisoten v številnih rastlinskih vrstah, kot sta konoplja in hmelj. Pri jabolkih so bili identificirani različni terpeni, kot so germakren, beta-kariofilen, linalool in alfa-pinen. Vrtnice, ki se uporabljajo tudi za pridobivanje eteričnih olj za parfume in kozmetiko, imajo visoko gospodarsko in zdravstveno vrednost, pri čemer lahko trepeni v nekaterih sortah vrtnic predstavljajo tudi do 70 % celotne arome (Zhang in sod., 2024).

2.2 PRESNOVA AMINOKISLIN

Presnova aminokislin vodi do tvorbe aromatičnih spojin, kot so aldehidi, kisline, alkoholi in estri, za katere so značilni večinoma sadni opisniki. Aromatične spojine, izpeljane iz aminokislin, se lahko razdelijo na dve veji. Ena pot uporablja fenilalanin kot substrat in sintetizira številne aromatične fenilpropanoide/benzoide. Aromatične spojine, izpeljane iz fenilalanina, vključujejo številne fenilpropanoide in benzoide, ki jih encim fenilalanin amoniak liaza (PAL) pretvori v cimetno kislino, nato pa se ta preko različnih poti pretvori v spojine, kot so metil salicilat, katehol ali evgenol. Fenilalanin lahko proizvede tudi druge aromatične spojine, kot so feniletilamin, 2-fenilacetaldehid, 2-fenilacetonitril in 1-nitro-2-feniletan. Iz fenilalanina se sintetizirajo aromatične spojine, ki so odgovorne za različne vonje in imajo pomembno vlogo pri vonju cvetov, sadja ter drugih rastlinskih delov. Benzaldehid na primer daje značilno aromo mandljev, medtem ko benzil acetat tvori svež vonj, podoben jasmínu in hruški. Benzil alkohol ima blag aromatičen vonj, cinamaldehyd pa je znan po svojem značilnem vonju cimeta. Evgenol oddaja aromo po klinčkih, metil benzoat pa ima močan sladek cvetlični vonj s sadnim pridihom (Skaliter in sod., 2022).

Druge aminokisline, kot so alanin, valin, levcin, izolevcin in metionin, so prav tako vključene v biosintezo nekaterih aromatičnih spojin, ki proizvajajo aldehide, alkohole, estre, kisline ter dušikove in žveplove hlapne spojine. Najprej aminokisline proizvedejo α -keto kislino preko deaminacije ali transaminacije. Nadaljnje reakcije, kot so dekarboksilacija, redukcije, oksidacije in esterifikacija, vodijo do tvorbe aldehydov, kislin, alkoholov in estrov. Tipični produkti so tudi žveplove spojine, ki so prisotne v nekaterih fermentiranih živilih (sir, pivo, vino) in tropsko-subtropskih sadežih, kot sta grenivka in limona (Zhang in sod., 2024; Mostafa in sod., 2022).

2.3 PRESNOVA MAŠČOBNIH KISLIN

Maščobne kisline predstavljajo ključne prekursorje hlapnih aromatičnih spojin v večini sadja. Iz maščobnih kislin, ki vsebujejo od 1 do 20 ogljikovih atomov, nastajajo ravnoverižni alkoholi, aldehidi, ketoni, kisline, estri in laktoni, ki so predvsem odgovorni za svežo in sadno aromo. Glavni presnovni poti maščobnih kislin v sadju vključujeta β -oksidacijo in lipooksigenazno pot. β -oksidacija je bolj izrazita pri nepoškodovanem sadju, medtem ko lipooksigenazna pot prevladuje v primerih, ko je sadno tkivo poškodovano (Jesenko in sod., 2025b). Kljub temu nekatere študije nakazujejo, da povečana razpoložljivost maščobnih kislin, skupaj z večjo prepustnostjo membrane med zorenjem sadja, omogoča aktivacijo lipooksigenazne poti tudi v nedotaknjemem rastlinskem tkivu, kjer deluje kot alternativa β -oksidaciji (El Hadi in sod., 2013; Espino-Díaz in sod., 2016). Spojine, sintetizirane preko lipooksigenazne poti, vključujejo nasičene in nenasičene aldehide ter alkohole C6 in C9, kot so 3Z-heksenol, 2E-heksenal in 2E, 6Z-nonadienal ter različne linearne estre, vključno s heksil acetatom in butil acetatom, ki sta ena najpomembnejših spojin za aromo jabolk (Jesenko in sod., 2025c). Te spojine so odgovorne

za svežo zeleno in sadno aromo. Nasprotno pa spojine, sintetizirane preko beta-oksidacije, obsegajo kratko- in srednjeveržne linearne karboksilne kisline, alifatske aldehide in alkohole, estre ter laktone, vključno z γ - in δ -laktoni. Te spojine prispevajo k različnim aromam: kratke kisline dajejo ostre, maslene in sirove arome; aldehidi in alkoholi prinašajo sadne arome; estri dodajajo sadne in cvetlične note; laktoni pa so značilni za sadne arome, kot je aroma breskve (Schwab in sod., 2008).

3 ZAZNAVANJE AROME

V raziskavah arom se pojavljata izraza vonj (angl. odor) in vonjalna snov (angl. odorant). Vonj se nanaša na zaznavo, ki jo oseba doživi, ko ena ali več kemikalij pride v stik z vohalnim živcem. Nasprotno pa se vonjalna snov nanaša na kemijsko spojino ali mešanico kemijskih spojin v zraku, ki je odgovorna za občutenje vonja (Egea in sod., 2021). Da lahko vonjalne snovi aktivirajo vohalne receptorje, morajo biti hlapne in hidrofobne ter prisotne v koncentracijah, ki presegajo njihov prag vonjalne zaznave (angl. odor threshold; OT) (Berčik in sod., 2021). Značilna aroma živil je tako običajno rezultat zaznave desetih ali stotin kompleksnih hlapnih molekul (dišavnih snovi), ki so večinoma hidrofobne in se nahajajo v živilih v sledovih (Egea in sod., 2021). Aroma se zaznava bodisi skozi nos (ortonazalna olfakcija) ali usta (retronazalna olfakcija), ko aromatične molekule dosežejo olfaktorni epitelij. Ortonazalna olfakcija obravnava dražljaje iz zunanjega okolja, ki med vohanjem potujejo skozi prednji del nosne votline proti olfaktorni sluznici. Nasprotno pa se pri retronazalni olfakciji med žvečenjem in po požiranju hlapne aromatične molekule sprostijo iz hrane in prek žrela potujejo do nosne votline, kjer stimulirajo receptorje v olfaktorni regiji (Ruuschoff in sod., 2009). Ne glede na pot zaznave (ortonazalno ali retronazalno) se proces začne v vohalnem epiteliju, kjer se nahajajo specializirane senzorične celice z receptorji, vezani na gvaninske nukleotide (angl. G-protein coupled receptors; GPCR). Ko se aromatična molekula veže na GPCR, to sproži aktivacijo specifičnega G-proteina, kar nadalje sproži znotrajcelično signalno kaskado. Ključni korak v tem procesu je aktivacija encima adenilat ciklaza, kar vodi do povečane koncentracije cikličnega adenozin monofosfata (angl. cyclic adenosine monophosphate; cAMP). Ta sekundarni obveščevalec omogoči odpiranje ionskih kanalov, kar povzroči depolarizacijo membrane senzorične celice in generacijo akcijskega potenciala. Električni impulzi potujejo vzdolž aksonov (olfaktornih senzoričnih nevronov) v olfaktorno čebulico (*bulbus olfactorius*), kjer se informacije najprej obdelajo v glomerulih. Od tam se signali preko sekundarnih nevronov prenašajo v višje možganske strukture: piriformno skorjo, orbitofrontalni korteks, amigdalo in hipokampus. Ti predeli sodelujejo pri zaznavanju, prepoznavanju, čustvenem vrednotenju in spominskem kodiranju vonjev (Kehl in sod., 2024; Egea in sod., 2021; Sowndhararajan in Kim, 2016). V piriformni skorji se nevroni odzivajo na kemijsko identiteto vonja, kar omogoča hitro in natančno dekodiranje zaznane arome, medtem ko aktivnost v hipokampusu bolj odraža subjektivno zaznavo in je tesno povezana z uspešnostjo vedenjskega prepoznavanja vonjev. Amigdala je ključna za kodiranje čustvene vrednosti vonja, saj se nevroni v tej regiji močneje odzivajo na subjektivno prijetne kot na neprijetne vonje (Kehl in sod., 2024). Orbitofrontalni korteks kot sekundarna olfaktorna skorja pa integrira informacije iz različnih čutov ter sodeluje pri zaznavnem odločanju, vrednotenju prijetnosti in prepoznavanju vonjav (Pu in sod., 2022). Tako je zaznavanje arome rezultat usklajenega delovanja več nevralnih sistemov, ki skupaj tvorijo celovito čutno izkušnjo.

Zaznavanje arome je dinamičen proces. Med prehranjevanjem se aromatične spojine postopoma sproščajo iz živila v prostor v ustni votlini. Koncentracija aromatičnih spojin, ki dosežejo olfaktorne receptorje, se nenehno spreminja skozi čas – od začetka zaznave, prek njenega vrhunca, do postopnega bledenja in obstojnosti zaznave (angl. persistence) ali pookusa (angl. after-smell). Kinetika sproščanja arom iz živila je odvisna od sestave in strukture hrane (matrice živila) in fizioloških procesov v ustih, ki se pogosto opisujejo kot oralna obdelava hrane (angl. food oral processing). Procesi, kot so slinjenje, žvečenje in gibanje jezika, vodijo v tvorbo zalogaja (bolus) s prisotno slino in nato v požiranje. Ti mehanizmi se med posamezniki zelo razlikujejo zaradi fizioloških in vedenjskih razlik, kar tudi pojasnjuje del mehanizma, zakaj se zaznava arome med posamezniki razlikuje. Poleg tega pride do časovnih zamikov sproščanja zaradi adsorpcije aromatičnih spojin na ustno sluznico, kar pojasni podaljšano zaznavo arom oziroma obstojnost zaznave in pojav pookusa tudi po zaužitju hrane (Quéré in Schoumacker, 2023).

Zaznavanje arome, torej njeno prepoznavanje, je odvisno od hlapnosti molekul in njihove koncentracije, ki doseže človeški vohalni sistem, od fiziologije nosne in ustne sluznice ter od prisotnosti mikrobiote. Prav tako je odvisno od izkušenj in spominov posameznika ter njegove senzorične ostrine. Na primer, oseba, ki še nikoli ni doživela določene arome, je ne bo prepoznala in je ne bo povezala s specifičnimi notami. Poleg tega se pri vsakem posamezniku lahko opazijo spremembe v pragovih določene spojine in zaznava arom, ki so povezane z razpoloženjem, časom biološkega ritma ter z občutki lakote ali sitosti, pa tudi s starostjo (Mobley in sod., 2013).

4 UČINKI RASTLINSKIH AROM

4.1 PREHRANA ČLOVEKA

Čeprav aroma živil nima neposredne hranilne vrednosti, ima pomemben vpliv na uživanje hrane, vključno z izbiro živil, energijskim vnosom in oblikovanjem prehranskih navad. Arome živil opozarjajo na prisotnost hrane v okolici in usmerjajo naš apetit, kar neposredno vpliva na izbiro hrane. Na primer, ko zaznamo vonj sveže pečene kruha, se pogosto sproži nenadna želja po hrani, kar je pojav, znan kot senzorično-specifični apetit, ki poudarja, kako vonjave sprožijo specifičen apetit za določene izdelke (Boesveldt in Parma, 2021).

Prijetne arome lahko znatno vplivajo na dopaminske odzive v možganih in povečajo motivacijo za prehranjevanje. Natančneje, hlapne aromatične spojine hrane usmerjajo apetit in hrepenenje po določenih živilih, kar pomembno vpliva na izbiro in uživanje hrane (Han in sod., 2020). Arome imajo ključno vlogo pri stimulaciji apetita. Sistematični pregled avtorjev Nguyen in sod., (2023) potrjuje, da imajo eterična olja in njihove hlapne aromatične spojine pomemben vpliv na apetit prek več različnih mehanizmov. Ključni med njimi so aktivacija olfaktorne poti, uravnavanje izražanja oreksigenih neuropeptidov (spodbujajo lakoto in prehranjevanje) in anoreksigenih neuropeptidov (zavirajo apetit) ter tudi modulacija simpatičnega in parasimpatičnega živčnega sistema. Ugotovljeno je bilo, da eterična olja iz rastlin, kot so sivka, vanilja, črni poper, klinčki in cimet, stimulirajo apetit, medtem ko nekatera eterična olja, vključno z olji iz grenivke, limete in poprove mete, delujejo na zaviranje apetita.

Vonj hrane aktivira olfaktorne receptorje v nosu, kar sproži kaskado fizioloških odzivov v telesu. Ta proces vključuje povečano izločanje sline in želodčnih sokov, kar pripravi prebavni sistem na sprejem hrane. S stimulacijo prebavnih procesov lahko izboljšajo absorpcijo hranilnih snovi, kar poveča prehransko vrednost zaužite hrane. Aromatične spojine lahko tudi sprožijo sproščanje hormonov, kot je grelin, znan kot 'hormon lakote', ki dodatno spodbuja občutek lakote. Poleg tega arome vplivajo na limbični sistem v možganih, ki je povezan z čustvi in spomini, kar lahko ustvari pozitivne asociacije s hrano in poveča željo po njej. Nazadnje arome zagotavljajo tudi senzorično zadovoljstvo, saj prispevajo k občutku sitosti in polnosti po jedi. Določena hranila ali spojine imajo lahko značilno aromo, zaradi česar hlapne aromatične spojine posredujejo informacije o hranilni vrednosti živil, kot so kalorična gostota, kakovost okusa ter prisotnost določenih makrohranil ali drugih hranilnih snovi. Te asociacije vonj-okus ali vonj-hranilo se razvijejo skozi proces učenja med ponavljajočim se uživanjem hrane (Godyla-Jabłoński in sod., 2025; Boesveldt in Parma, 2021; Han in sod., 2020).

Glede na to, da arome lahko pomembno vplivajo na izbiro hrane in vedenje potrošnikov, bi lahko strategije, ki vključujejo ciljno usmerjene arome, imele ključno vlogo pri usmerjanju potrošnikov k zdravim prehranjevalnim izbiram. Na primer, uporaba svežih in privlačnih arom v izdelkih z nizko energijsko gostoto bi lahko povečala njihovo privlačnost in pritegnila pozornost potrošnikov, s čimer bi spodbudila izbiro prehransko bolj ugodnih živil in tako prispevala k zdravim prehranskim navadam.

4.2 KULTURNI POMEN

Aroma hrane igra ključno vlogo pri oblikovanju in ohranjanju tradicij ter definiranju kulinarčnih identitet. Na primer, kuhinja Minangkabau z zahodne Sumatre v Indoneziji je znana po svojem edinstvenem okusu in aromi, ki sta pomemben del kulturne identitete ljudi Minangkabau (Mardatillah, 2020). Podobno so značilni okusi in arome tajske ulične hrane glavna atrakcija za turiste, saj jim ponujajo neposreden stik z lokalno kulturo in socialno dinamiko (Terason in sod., 2024). Medtem ko bazilika v preteklosti skoraj ni bila uporabljena v Italiji, je danes pomemben vir arome v mediteranski kuhinji (Spence in sod., 2024).

4.3 ZDRAVILNI UČINKI ETERIČNIH OLJ

Eterična olja, ki predstavljajo pomemben vir arom, se vse pogosteje uporabljajo v farmaciji kot dopolnilo ali alternativa tradicionalni medicini, zlasti v okviru aromaterapije. Ta terapevtski pristop izkorišča zdravilne lastnosti eteričnih olj, ki izhajajo iz njihovih hlapnih aromatičnih spojin. Aromatične spojine so pridobljene iz različnih delov rastlin, vključno z listi, cvetovi, koreninami in skorjo, in so znane po svojih številnih farmakoloških učinkih. Med najpomembnejšimi terapevtskimi lastnostmi eteričnih olj so njihovo protibakterijsko delovanje, ki učinkovito zavira rast tako gram-pozitivnih kot gram-negativnih bakterij, ter protiglivično in protivirusno delovanje, ki pomaga pri zdravljenju in preprečevanju različnih okužb. Poleg tega imajo ta olja izrazito protivnetno delovanje, kar je koristno pri zdravljenju stanj, kot so artritis in druge vnetne bolezni. Eterična olja prav tako delujejo kot naravni insekticidi in repelenti, učinkoviti proti ušem in komarjem, kar jih naredi uporabne v boju proti širjenju bolezni, ki jih prenašajo ti paraziti. Antioksidativne lastnosti teh olj pomagajo v boju proti prostim radikalom in imajo potencial pri preprečevanju nekaterih oblik raka. Znane so tudi nekatere njihove hormonske lastnosti, kot je vpliv na ravnovesje estrogena (Ali in sod., 2015).

4.4 VPLIV AROM NA EMOCIJE IN RAZPOLOŽENJE

Hlapne aromatične spojine, ki jih tvorijo rastline, vplivajo tudi na čustveno stanje. Študije kažejo, da lahko številne rastlinske arome pri vdihavanju izzovejo pozitivna čustvena stanja, kot so mirnost, sprostitve, izboljšano razpoloženje in zmanjšana anksioznost. Učinki se razlikujejo glede na uporabljeno aromo. Na primer, aroma sivke je zmanjšala anksioznost, izboljšala razpoloženje in povečala občutek miru pri pacientih v zobozdravstvenih ordinacijah in pri ženskah. Vonj pomaranče je zmanjšal anksioznost in povečal pozitivno razpoloženje ter občutek miru pri ženskah. Olje jasmína je povečalo občutke dobrega počutja, aktivnosti, svežine in romantike. Prav tako je bilo ugotovljeno, da vonj poprove mete izboljša razpoloženje in je bil ocenjen kot prijetnejši, intenzivnejši, stimulativen in vznemirljivejši v primerjavi z vodo. Inhalacija eteričnega olja bergamotke je pomagala stabilizirati tako fizično kot duševno stanje ter ga narediti bolj sproščeno. Aromaterapevtska masaža z oljem sivke in kamilice je imela pozitivne učinke na anksioznost in samospoštovanje. Poleg tega so bila različna eterična olja, kot so bazilika, bergamotka, kardamom, cimet, prepoznana kot psihofiziološko učinkovita na razpoloženje in čustva (Sowndhararajan in Kim, 2016). Kofein je splošno znan po svojih učinkih na povečanje budnosti in koncentracije, vendar pa vpliva na počutje ne prinaša le sam kofein. Raziskave so pokazale, da lahko vonj po kavi izboljša uspešnost pri nalogah, ki zahtevajo analitično razmišljanje. Ta vonj ne samo da izboljša uspešnost, ampak tudi ustvari višja pričakovanja glede učinkovitosti in budnosti. Zanimivo je, da je ta vpliv lahko posledica placebo učinka, saj samo pričakovanje, da bo vonj kave povečal mentalno prisotnost in energijo, lahko dejansko izboljša naše kognitivne funkcije. Tako ima aroma kave neposreden vpliv na naše vedenje in počutje, kar ponazarja kompleksen način, na katerega naše okolje in čutne izkušnje vplivajo na naše mentalno stanje (Madzharov in sod., 2018). Rastlinske arome igrajo pomembno vlogo tudi kot naravna opozorila pred potencialnimi nevarnostmi v okolju. Nekatere rastline izločajo posebne hlapne aromatične spojine, ko so poškodovane ali napadene s strani škodljivcev. Ti vonji lahko delujejo kot repelenti, ki odganjajo herbivore ali privabljajo plenilce škodljivcev (Dicke and Baldwin, 2010). Za ljudi pa te arome služijo kot signal, da je rastlina morda strupena ali pokvarjena. Na primer, grenak okus in oster vonj lahko nakazuje na prisotnost alkaloidov ali drugih potencialno škodljivih kemikalij. Arome nekaterih rastlin delujejo kot naravni repelenti proti insektom in drugim škodljivcem, kar lahko zmanjša potrebo po uporabi kemičnih pesticidov. Na primer, vonj citronele je znan po svoji sposobnosti, da odganja komarje (Higuchi in sod., 2023).

5 UPORABA RASTLINSKIH AROM V PREHRAMBENI INDUSTRIJI

Aroma živil je rezultat kompleksne kombinacije in interakcije številnih aromatičnih spojin, ki skupaj tvorijo specifičen senzorični profil. Medsebojno lahko delujejo sinergistično, antagonistično, kooperativno ali pa tvorijo povsem nov aromatični profil. Prav ta kompleksnost naravnih arom jih naredi težko ponovljive s pomočjo kemične in encimske sinteze. Hlapne aromatične spojine rastlin so tako ključnega pomena pri ustvarjanju naravnih in bogatih aromatičnih profilov živilskih in neživilskih izdelkov (Ferreira in sod., 2021). Poleg tega arome dosegajo vse višjo tržno vrednost, saj potrošniki vse bolj zahtevajo, da živila vsebujejo naravne sestavine. Ta trend je posledica naraščajočega zavedanja o zdravstvenih in okoljskih prednostih naravnih izdelkov ter želje po

avtentičnih okusih, ki jih sintetični nadomestki pogosto ne morejo ponuditi. Naravne arome so ključni element v razvoju živilskih izdelkov, ki ne le izpolnjujejo, ampak tudi presegajo pričakovanja sodobnih potrošnikov. Zaradi svoje sposobnosti, da izboljšajo okus, vonj in splošno privlačnost izdelkov, rastlinske arome odigrajo ključno vlogo pri oblikovanju potrošnikovih preferenc in vplivajo na tržno uspešnost produktov.

V prehrabeni industriji so rastlinske arome ključnega pomena pri razvoju in izboljšavi izdelkov. Uporabljajo se za aromatiziranje širokega spektra živilskih izdelkov, vključno z napitki, sladicami, pecivom, pripravljenimi obroki in konzervirano hrano. Efekt izboljšanja okusa zaradi arome (angl. aroma-induced taste enhancement) je že dobro poznan (Burseg in sod., 2010). Na primer, etil heksanoat, ester, ki se naravno tvori med zorenjem jabolka, lahko pomembno prispeva k občutku sladkosti jabolčnega soka, kar kaže na visok potencial pri razvoju novih živil z manjšo vsebnostjo sladkorja, ne da bi to potrošniki opazili (Brattigna in sod., 2018). Študija Wang in sod., (2024) je pokazala, da lahko vonj in barva napitkov (npr. vonj jagode in rdeča barva) povečata zaznavo sladkega, kar je bilo povezano tudi z višjo ravno inzulina po zaužitju – čeprav je bila vsebnost sladkorja v vseh napitkih enaka. Prav tako lahko pomagajo pri maskiranju neželenih okusov in vonjev v nekaterih funkcionalnih živilih, kot so prehranski dodatki. Hlapne aromatične spojine se zaradi svojih protimikrobnih lastnosti uporabljajo tudi kot naravni aditivi za podaljšanje obstojnosti živil (Abbs in sod., 2023; Bolouri in sod., 2022).

5.1 MLEČNA INDUSTRIJA

Rastlinske arome, bodisi v obliki eteričnih olj, ekstraktov, posušenih zelišč ali njihovih bioaktivnih spojin, bistveno prispevajo k celotni senzorični kakovosti mlečnih izdelkov. Arome prispevajo k prepoznavnosti in diferenciaciji mlečnih izdelkov – denimo zeliščni siri, z origanom, timijanom ali rožmarinom, ali jogurti z dodatkom bazilike, mete ali sivke razvijajo specifičen senzorični profil, ki vpliva na sprejemljivost pri potrošnikih. Številne rastlinske sestavine, kot so fenolne spojine, flavonoidi, aldehidi in terpeni, poleg aromatičnih lastnosti delujejo tudi antioksidativno, s čimer preprečujejo razvoj nezaželenih vonjev zaradi oksidacije maščob. S tem se podaljša svežina in preprečuje nastanek neprijetnih vonjav, ki so še posebej izraziti v fermentiranih mlečnih izdelkih. Z dodatkom nekaterih rastlinskih zelišč, kot so cimet, nageljnov žbice ali ingver, je mogoče tudi maskirati morebitne neprijetne arome, ki nastanejo v procesu fermentacije, skladiščenja ali zaradi specifičnih mlečnih matric. Pri uporabi rastlinskih arom pa je ključno tudi razumevanje interakcij med aromatičnimi komponentami in mlečno matrico. Maščobe, beljakovine in encimi lahko vplivajo na sproščanje arom v ustih, zato se senzorični učinek posameznih rastlinskih arom lahko razlikuje glede na vrsto izdelka (sir, jogurt, maslo...). V številnih študijah je bilo ugotovljeno, da zeliščni dodatki, kot so timijan, origano, meta, žajbelj in rožmarin, ne le izboljšajo senzorične ocene mlečnih izdelkov, temveč tudi povečajo njihovo funkcionalno vrednost, saj prispevajo k antioksidativnemu potencialu in mikrobiološki stabilnosti brez negativnega vpliva na zaželeno mlečnokislinske bakterije. Takšne rešitve omogočajo razvoj funkcionalnih mlečnih izdelkov z dodano vrednostjo, ki združujejo prijetno aromo z naravno zaščito izdelka (Abd El-Aziz in sod., 2023; Kaptan in Sivri, 2018).

5.2 MESNA INDUSTRIJA

Hlapne aromatične spojine pomembno prispevajo tudi h kakovosti mesnih izdelkov. Rožmarin, origano, žajbelj, bazilika, majaron, timijan in meta, vsebujejo večje koncentracije fenolnih spojin (npr. karvakrol, timol, evgenol, cinamaldehyd), ki prispevajo k prepoznavnim aromatičnim profilom mesnih izdelkov in obenem delujejo kot naravni antioksidanti in protimikrobna sredstva. Vplivajo na zaznavo svežine, okusa, zmanjšujejo pojav 'off-flavorjev' in podaljšujejo obstojnost mesnih izdelkov. Vendar ima neposredna uporaba eteričnih olj lahko tudi negativne organoleptične učinke, zlasti pri večjih koncentracijah, kjer se lahko razvijejo premočne, zeliščne ali celo pekoče note. Za namen preprečevanja teh negativnih učinkov, se vse pogosteje uporabljajo tehnike mikro- in nanoenkapsulacije, ki omogočajo kontrolirano sproščanje aktivnih spojin, ohranjajo aromo in hkrati zmanjšujejo nezaželene vonjave. Poleg aromatizacije in zaščite imajo te rastlinske spojine pogosto pozitiven vpliv na stabilnost barve mesnih izdelkov, izboljšujejo teksturo (npr. z zadrževanjem vlage) in sodelujejo pri tvorbi kompleksnosti arome, kar lahko bistveno dvigne senzorično vrednost. Na primer, v raziskavah je dodatek žajbljevega ali rožmarinovega olja v klobasah zmanjšal oksidacijo maščob, hkrati pa izboljšal aromo in teksturo izdelka. Posebno pozornost v senzorični aplikaciji arom je potrebno nameniti interakciji med aromami in mesno matriko.

Beljakovine, maščobe in pH izdelka pomembno vplivajo na sproščanje in zaznavanje arom (Marc in sod., 2022; Zhang in Piao, 2023; Vlaic in sod., 2022).

5.3 INDUSTRIJA BREZALKOHOLNIH PIJAČ

V industriji pijač uporaba hlapnih aromatičnih spojin vključuje predvsem terpene (limonen, linalool, mentol), aldehide (cinamaldehyd), estre in alkohole (geraniol), ki so prisotni v rastlinah, kot so citrusi, meta, sivka, rožmarin in bazilika. Njihov dodatek omogoča oblikovanje izrazitih senzoričnih profilov – limonen prispeva k citrusni svežini, mentol hladen in poživljajoč občutek, medtem ko linalool doda mehko cvetlično noto, ki je priljubljena v zeliščnih in sproščujočih napitkih. Tovrstne spojine so izjemno cenjene tudi zato, ker prispevajo k zaznavi naravnih in čistih arom, s čimer povečujejo splošno sprejemljivost funkcionalnih napitkov. Tudi v industriji pijač uporaba hlapnih aromatičnih spojin predstavlja izzive. Zaradi svoje nestabilnosti so te spojine občutljive na oksidacijo, svetlobo, toploto in spremembe pH, kar lahko vodi do izgube arome ali razvoja nezaželenih vonjav. Poleg tega lahko prevelike koncentracije teh spojin povzročijo pretirano intenzivne, prekoče arome ali grenkobo, ki zmanjšujejo potrošniško sprejemljivost. Zelo pomemben dejavnik je tudi matrica pijače, saj vsebnost sladkorjev, kislost, viskoznost, prisotnost emulgatorjev ali beljakovin bistveno vpliva na sproščanje in zaznavanje hlapnih komponent. Denimo, višja kislost lahko pospeši sproščanje hlapnih aromatičnih spojin, medtem ko prisotnost maščob ali polisaharidov njihovo sproščanje upočasni (Wu in sod., 2023; Maleš in sod., 2022; Moss in sod., 2008).

5.4 MARKETING

Vsak posameznik si lahko zapomni izkušnjo z jedjo ali kozarcem vina, pri katerih dolgotrajne arome podaljšujejo užitek tudi po zaužitju. Trajanje teh prijetnih aromatičnih zaznav pomembno vpliva na hedonistično vrednost priljubljenih živil, kot so kava, vino, čaj, čokolada ali siri, pa tudi na druge izdelke, ki jih uporabljamo vsakodnevno, kot so zobne paste in osvežilci daha. Nasprotno pa dolgotrajno zaznavanje neprijetne arome predstavlja izrazito neprijetno izkušnjo. Na primer, nekateri se izogibajo uživanju določenih začinjenih jedi s surovim česnom ali čebulo ali nekaterih zdravil zaradi močnih, dolgotrajnih učinkov, ki sledijo njihovem zaužitju. Ta pojav, imenovan vztrajnost arome, močno vpliva na vedenje potrošnikov, saj predstavlja ključni kriterij pri izbiri izdelkov (Muñoz-González in sod., 2022). Zaradi tega živilska industrija, proizvajalci zobnih izdelkov in farmacevtska industrija vse bolj poudarjajo kakovost, intenzivnost in trajanje zaznave arome kot odločilni del potrošniške izkušnje. Kompleksen pomen rastlinskih arom nedvomno kaže, da imajo te izjemno vlogo tudi v marketingu, saj neposredno vplivajo na zaznavo izdelkov s strani potrošnikov in močno prispevajo k oblikovanju blagovne znamke. Uporaba arom v marketinških strategijah omogoča podjetjem, da svoje izdelke pozicionirajo na trgu kot kakovostne, privlačne in zaželene. Aroma omogoča oblikovanje posebne aromatične identitete izdelkov, ki lahko spodbudi čustvene reakcije in sproži spomine, kar vodi do močnejše povezave potrošnika z izdelkom ali znamko. Dejstvo, da vonj svežega pečenega kruha vodi potrošnike do oddelka s kruhom in povečuje prodajo, že dolgo izkoriščajo supermarketi in pekarije kot strategijo za povečanje prodaje. Arome hrane vplivajo tudi na vedenje v restavracijah in trgovinah (de Wijk in sod., 2018). Arome izboljšajo celotno potrošniško izkušnjo z izdelkom, kar je še posebej pomembno v prostorih, kot so trgovine, hoteli ali restavracije. Aromatizacija prostorov lahko ustvari prijetno vzdušje, ki potrošnike spodbudi k daljšemu obisku ali ponovnemu obisku. V restavracijah lahko pravilno izbrana aroma v prostoru izboljša percepcijo okusa hrane in splošno zadovoljstvo gostov. Na primer, izpostavljenost citrusni aromi je zmanjšala izbiro sira (de Wijk in sod., 2012), medtem ko je prisotnost arome kave na bencinski črpalki vodila v več kot 300 % povečanje prodaje kave (Spence, 2015). Leendser in sod. (2016) pa so ugotovili, da se potrošniki v trgovini zadržujejo dlje časa, če je v prostoru prisotna sadna aroma. Raziskave so pokazale, da uporaba difuzorjev z aromami v prodajnih prostorih lahko privede do znatnega povečanja prodaje, zlasti pri izdelkih, kot so slaščice (Berčík in sod., 2021; Berčík in sod., 2020).

Aroma marketing ne ustvarja samo prijetnejših nakupovalnih okolij, ampak tudi povečuje odzivnost in zvestobo potrošnikov ter krepi njihovo zaupanje v znamke. Dišave spodbujajo kupce k nakupu in pozitivno vplivajo na zaposlene, saj ustvarjajo prijetno in spodbudno nakupovalno vzdušje. Čut za voh ima ključno vlogo pri

odločitvenih procesih potrošnikov, pri čemer arome vplivajo na čustva in ocenjevanje izdelkov, kar kroji nakupne namere in vedenje kupcev. Aroma pomembno prispeva k diferenciaciji izdelkov med blagovnimi znamkami. Poleg tega kot del blagovne znamke prispevajo k prepoznavnosti podjetij ali trgovin, saj lahko postanejo del njihove identitete (Berčik in sod., 2021; Berčik in sod., 2020). Rastlinske arome zaradi svoje naravne pridobitve in ekoloških prednosti postajajo vse bolj priljubljene, kar odpira nove priložnosti za inovacije v aroma marketingu in razvoju trajnostnih strategij, ki ne samo izboljšujejo potrošniško izkušnjo, ampak tudi povečujejo prodajne rezultate.

6 ZAKLJUČEK

Hlapne aromatične spojine rastlin predstavljajo izjemno pomemben in večplasten vir, ki ima širok vpliv na različna področja človekovega življenja in industrije. Te spojine, ki nastajajo kot sekundarni metaboliti rastlin, igrajo ključno vlogo pri oblikovanju senzoričnih lastnosti hrane, kozmetičnih izdelkov in drugih produktov. Njihova biokemijska raznolikost, ki izvira iz presnove ogljikovih hidratov, aminokislin in maščobnih kislin, omogoča nastanek širokega spektra spojin z različnimi aromami in učinki. Z vidika človeške zaznave imajo arome izjemno moč - vplivajo na naše čustvene in kognitivne odzive, izboljšujejo razpoloženje in imajo celo terapevtske učinke. V prehrani igrajo ključno vlogo pri izbiri živil, vnosu energije in oblikovanju prehranskih navad. Poleg tega imajo pomembno kulturno vrednost, saj prispevajo k ohranjanju tradicij in definiranju kulinaričnih identitet. Učinki rastlinskih arom se kažejo v njihovih protimikrobnih, protivnetnih in antioksidativnih lastnostih, zaradi česar postajajo dragocena komponenta v farmaciji in aromaterapiji. V industriji so rastlinske arome nepogrešljive v številnih sektorjih - od prehranske industrije in kozmetike do farmacije in proizvodnje čistil. Njihova sposobnost izboljšanja senzoričnih lastnosti izdelkov ustvarja pozitivne potrošniške izkušnje, kar potrjuje njihov tržni potencial. Glede na naraščajoče povpraševanje po naravnih sestavinah in trajnostnih rešitvah, lahko pričakujemo, da bodo rastlinske arome v prihodnosti igrale še pomembnejšo vlogo. Njihov potencial za razvoj novih, funkcionalnih in okolju prijaznih izdelkov odpira številne možnosti za inovacije v različnih industrijskih panogah.

7 VIRI

- Abbas F., Zhou Y., O'Neill Rothenberg D., Alam I., Ke Y., Wang H.C. 2023. Aroma Components in Horticultural Crops: Chemical Diversity and Usage of Metabolic Engineering for Industrial Applications. *Plants*, 12, 9: 1748. <https://doi.org/10.3390/plants12091748>
- Abd El-Aziz, M., Salama H. H., Sayed R. S. 2023. Plant extracts and essential oils in the dairy industry: A review. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 321–337. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-579>
- Ali B., Al-Wabel N.A., Shams S., Ahamad A., Khan S.A., Anwar F. 2015. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pac J Trop Biomed*. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
- Berčik J., Neomániová K., Mravcová A., Gálová J. 2021. Review of the potential of consumer neuroscience for aroma marketing and its importance in various segments of services. *Applied Sciences (Switzerland)*. <https://doi.org/10.3390/app11167636>
- Berčik J., Virág R., Kádek Z., Duchoňová T. 2020. Aroma Marketing As A Tool To Increase Turnover In A Chosen Business Entity. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 1161–1175. <https://doi.org/10.5219/1475>
- Boesveldt S., Parma V. 2021. The importance of the olfactory system in human well-being, through nutrition and social behavior. *Cell Tissue Res*. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03367-7>
- Bolouri P., Salami R., Kouhi S., Kordi M., Asgari Lajayer B., Hadian J., Astatkie T. 2022 Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. *Molecules*, 27(24), 8999. <https://doi.org/10.3390/molecules27248999>
- Brann D., Datta S. 2020. Finding the brain in the nose. *Annu Rev Neurosci* 43, 277–295. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-102119-103452>
- Brattinga C., de Kok P.M.T., Bult J.H.F. 2018. Sugar reduction in flavoured beverages: The robustness of aroma-induced sweetness enhancement. In *Flavour Science: Proceedings of the XV Weurman Flavour Research Symposium*; Verlag der Technischen Universität Graz: Graz, Austria; pp. 199–206.

- Burseg K. M. M., Camacho S., Knoop J., Bult J. H. F. 2010. Sweet taste intensity is enhanced by temporal fluctuation of aroma and taste, and depends on phase shift. *Physiology and Behavior*, 101(5), 726–730. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.08.014>
- de Wijk R.A., Smeets P.A.M., Polet I.A., Holthuysen N.T.E., Zoon J., Vingerhoeds M.H. 2018. Aroma effects on food choice task behavior and brain responses to bakery food product cues. *Food Qual Prefer* 68, 304–314. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.015>
- de Wijk R.A., Zijlstra S.M. 2012. Differential effects of exposure to ambient vanilla and citrus aromas on mood, arousal and food choice. *Flavour* 1. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-24>
- Dicke M., Baldwin I.T. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” *Trends Plant Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002>
- Egea M.B., Bertolo M.R.V., Filho J.G. de O., Lemes A.C. 2021. A narrative review of the current knowledge on fruit active aroma using gas chromatography–olfactometry (Gc-o) analysis. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules26175181>
- El Hadi M.A.M., Zhang F.J., Wu F.F., Zhou C.H., Tao J. 2013. Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules18078200>
- Espino-Díaz M., Sepúlveda D.R., González-Aguilar G., Olivas G.I. 2016. Biochemistry of apple aroma: A review. *Food Technol Biotechnol* 54. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4248>
- Ferreira, V., de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas M.P. 2021. A New Classification of Perceptual Interactions between Odorants to Interpret Complex Aroma Systems. Application to Model Wine Aroma. *Foods*, 10, 1627. <https://doi.org/10.3390/foods10071627>
- Godyla-Jabłoński M., Pachura N., Klemens M., Wolska J., Łyczko J. 2025. Natural Appetite Control: Food-Derived Aromas as Appetite Decreasing Agents—A Proof-of-Concept Study. *Nutrients* 17. <https://doi.org/10.3390/nu17050819>
- Han P., Chen H., Hummel T. 2020. Brain Responses to Food Odors Associated With BMI Change at 2-Year Follow-Up. *Frontiers in Human Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.574148>
- Higuchi C.T., Filho N.A., Lopes P.S., Grice J.E., Leite-Silva V.R. 2023. Topical Mosquito Repellent Formulations for Enhanced Repellency Time and Reduced Toxicity. *Curr Drug Deliv* 20(9), 1275–1287. <https://doi.org/10.2174/1567201819666220818162455>
- Jesenko E., Vidrih R., Zlatić E. 2025a. Comparative Analysis of Aroma Emissions in ‘Gala’ Apples Stored in Ethanol- and Hexanal-Enriched Controlled Atmosphere. *Foods*, 14(6), 930. <https://doi.org/10.3390/foods14060930>
- Jesenko E., Vidrih R., Zlatić E. 2025b. Effect of long-term controlled atmosphere storage enriched with ethanol or hexanal vapour on primary and secondary aroma compounds of ‘Braeburn’ and ‘Granny Smith’ apples. *Postharvest Biology and Technology*, 226. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2025.113563>
- Jesenko E., Vidrih R., Zlatić E. 2025c. Effects of Hexanal Supplementation on Volatile Compound Profiles and Quality Parameters of ‘Fuji Kiku’ Apples During Cold Storage and Shelf Life. *Agronomy*, 15(2), 292. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020292>
- Kaptan B., Sivri G. T. 2018. Utilization of medicinal and aromatic plants in dairy products. *Journal of Advancements in Plant Science*, 1(2), 207.
- Kehl M. S., Mackay S., Ohla K., Schneider M., Borger V., Surges R., Spehr M., Mormann F. 2024. Single-neuron representations of odours in the human brain. *Nature*, 634(8034), 626–634. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08016-5>
- Le Quéré J.L., Schoumacker R. 2023. Dynamic Instrumental and Sensory Methods Used to Link Aroma Release and Aroma Perception: A Review. *Molecules*. 2023;28(17): doi:10.3390/molecules28176308
- Leenders M.A.A.M., Smidts A., Haji A. El. 2019. Ambient scent as a mood inducer in supermarkets: The role of scent intensity and time-pressure of shoppers. *J Retailing Consumer Services* 48, 270–280. <https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2016.05.007>
- Liu X., Hao N., Feng R., Meng Z., Li Y., Zhao Z. 2021. Transcriptome and metabolite profiling analyses provide insight into volatile compounds of the apple cultivar ‘Ruixue’ and its parents during fruit development. *BMC Plant Biol* 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03032-3>
- Madzharov A., Ye N., Morrin M., Block L. 2018. The impact of coffee-like scent on expectations and performance. *J Environ Psychol* 57, 83–86. <https://doi.org/10.1016/j.jenvp.2018.04.001>
- Maleš I., Pedisić S., Zorić Z., Elez-Garofulić I., Repajić M., You L., Vladimir-Knežević S., Butorac D., Dragović-Uzelac V. 2022. The medicinal and aromatic plants as ingredients in functional beverage production. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105210>

- Marc V. R.A., Bacelar E., Pinto T., Anjos R., Correia E., Gonçalves B., Cosme F. 2019. Beverage and food fragrance biotechnology, novel applications, sensory and sensor techniques: An overview. *Foods*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/foods8120643>
- Mardatillah, A. 2020. The enterprise culture heritage of Minangkabau cuisine, West Sumatra of Indonesia as a source of sustainable competitive advantage. *J Ethnic Foods* 7(1). <https://doi.org/10.1186/s42779-020-00059-z>
- Mobley, A.S., Bryant, A.K., Richard, M.B., Brann, J.H., Firestein, S.J., Greer, C.A. 2013. Age-dependent regional changes in the rostral migratory stream. *Neurobiol Aging* 34, 1873–1881. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.01.015>
- Moss M., Hewitt S., Moss, L., Wesnes K. 2008. Modulation of cognitive performance and mood by aromas of peppermint and ylang-ylang. *International Journal of Neuroscience*, 118(1), 59–77. <https://doi.org/10.1080/00207450601042094>
- Mostafa S., Wang Y., Zeng W., Jin B. 2022. Floral scents and fruit aromas: Functions, compositions, biosynthesis, and regulation. *Front Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.860157>
- Muñoz-González C., Brule M., Martin C., Feron G., Canon F. 2022. Molecular mechanisms of aroma persistence: From noncovalent interactions between aroma compounds and the oral mucosa to metabolization of aroma compounds by saliva and oral cells. *Food Chemistry*, 373. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131467>
- Nguyen N. M., Nguyen T. Q., Kim D., Bae J. H., Kim H., Lee H., Park J. 2023. Effects of essential oils and fragrant compounds on appetite: A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 7962. <https://doi.org/10.3390/ijms24097962>
- Parker J.K. 2015. Introduction to aroma compounds in foods. In: Parker, J.K., Elmore, J.S., Methven, L., *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, Woodhead Publishing, pp. 3–30. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-103-0.00001-1>
- Pu D., Shan Y., Wang J., Sun B., Xu Y., Zhang W., Zhang Y. 2022. Recent trends in aroma release and perception during food oral processing: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(11), 3441–3457. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2132209>
- Ruuschoep R.M.A.J., Boelrijk A.E.M., Graaf C.D., Westerterp-Plantenga M.S. 2009. Retronasal aroma release and satiation: A review. *J Agric Food Chem* 57, 9888–9894. <https://doi.org/10.1021/jf901445z>
- Schwab W., Davidovich-Rikanati R., Lewinsohn E. 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant J.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03446.x>
- Skaliter O., Livneh Y., Agron S., Shafir S., Vainstein A. 2022. A whiff of the future: Functions of phenylalanine-derived aroma compounds and advances in their industrial production. *Plant Biotechnol J.* <https://doi.org/10.1111/pbi.13863>
- Sowndhararajan K., Kim S. 2016. Influence of fragrances on human psychophysiological activity: With special reference to human electroencephalographic response. *Sci Pharm* 84(4), 724–734. <https://doi.org/10.3390/scipharm84040724>
- Spence C. 2015. Leading the consumer by the nose: on the commercialization of olfactory design for the food and beverage sector. *Flavour*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s13411-015-0041-1>
- Spence C. 2024. Sweet basil: An increasingly popular culinary herb. *Int J Gastronomy Food Sci* 36, 100927. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100927>
- Terason S., Zheng H., Sangsrijan J. 2024. Flavors of fusion: The role of Thai street food in shaping culinary experiences for Chinese tourists. *Evol Stud Imagin Cult* 1700–1720. <https://doi.org/10.70082/esiculture.vi.1688>
- Vlaic R. A. M., Mureșan V., Mureșan A. E., Mureșan C. C., Tanislav A. E., Pușcaș A., Petruț G. S. M., Ungur R. A. 2022. Spicy and Aromatic Plants for Meat and Meat Analogues Applications. *Plants*, 11, 7. <https://doi.org/10.3390/plants11070960>
- Wang Q. J., Correa C. M. C., Andersen S. K., Birkle P., Jeppesen P. B. 2024. Metabolic effects of colour- and odour-induced sweetness enhancement, *Food Quality and Preference*, 113, 105056. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2023.105056>
- Wu T., Zhu W., Chen L., Jiang T., Dong Y., Wang L., Tong X., Zhou H., Yu X., Peng Y., Wang L., Xiao Y., Zhong T. 2023. A review of natural plant extracts in beverages: Extraction process, nutritional function, and safety evaluation. *Food Research International*, 172. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113185>
- Xu Y., Minhazul K.A.H.M., Li X. 2020. The occurrence, enzymatic production, and application of ethyl butanoate, an important flavor constituent. *Flavour Fragrance J* 35(6), 601–615. <https://doi.org/10.1002/ffj.3613>

Zhang D., Ma X., Xie Q., Yu F. 2024. Understanding and engineering of aroma compounds in crops. *Seed Biol.* <https://doi.org/10.48130/seedbio-0023-0025>

Zhang L., Piao X. 2023. Use of aromatic plant-derived essential oils in meat and derived products: Phytochemical compositions, functional properties, and encapsulation. *Food Bioscience*, 53. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102520>

VPLIV POLIAMINOV IN NJIHOVIH DERIVATOV NA OKSIDATIVNO STABILNOST OLJ IN EMULZIJ

Varineja DRAŠLER¹, Tomaž POLAK², Bogdan ŠTEFANE³, Helena ABRAMOVIČ⁴ in Blaž CIGIČ⁵

Povzetek: Poliamini, kot sta spermidin (SPD) in spermin (SPM), so naravno prisotne bioaktivne spojine s številnimi pozitivnimi učinki na zdravje. Njihovo antioksidativno delovanje je bilo doslej pokazano predvsem na ravni celic in organizmov, medtem ko je njihova uporabnost za oksidativno stabilizacijo lipidov v živilskih sistemih slabo raziskana. V naši študiji smo ugotovili, da hladno stiskana laneno, repično, sončnično in sojino olje naravno vsebujejo SPD in SPM. Sintetizirali smo acilirane derivate SPM, natančneje butanoilspermin (SPM-C4) in palmitoilspermin (SPM-C16), ter ovrednotili antioksidativni potencial dodanih poliaminov in derivatov v modelnem sistemu, oljih in emulzijah tipa olje-v-vodi. Ugotovili smo, da kljub nizki reaktivnosti v standardnih *in vitro* testih, poliamini učinkovito zavirajo oksidacijo metil linolenata v odsotnosti drugih antioksidantov ter pri tem presegajo učinkovitost tokoferolov. V lanenem olju sta SPM in SPM-C16 najbolj učinkovito zavrta tvorbo hidroperoksidov in stabilizirala večkrat nenasičene maščobne kisline. SPM, SPD in derivata SPM, so se izkazali za učinkovitejše od nekaterih pogosto uporabljenih antioksidantov, kot so butilhidroksitoluen, galna kislina in propil galat. SPM-C16 se je izkazal kot edini učinkovit antioksidant v emulzijah, saj se je zaradi dolge alkilne verige uspešno vgradil v lipidne kapljice. Tako SPM kot SPM-C16 nista izkazala prooksidativnega delovanja v koncentracijskem območju od 0,1 do 0,8 mmol/kg in sta učinkovito stabilizirala hladno stiskano laneno, sončnično, repično in sojino olje. Naši rezultati kažejo na velik potencial poliaminov in njihovih derivatov kot novih naravnih antioksidantov za izboljšanje stabilnosti različnih živilskih lipidnih sistemov.

Ključne besede: poliamini, palmitoilspermin, antioksidanti, rastlinska olja, emulzije, oksidacija

THE EFFECT OF POLYAMINES AND THEIR DERIVATIVES ON THE OXIDATIVE STABILITY OF OILS AND EMULSIONS

Abstract: Polyamines such as spermidine (SPD) and spermine (SPM) are naturally occurring bioactive compounds with numerous health benefits. While their antioxidant properties at the cellular and organismal level are well documented, their application in stabilising food lipids against oxidation remains relatively unexplored. In this study, cold-pressed linseed, rapeseed, sunflower and soybean oils were shown to naturally contain SPD and SPM. We synthesised acylated derivatives of SPM, specifically butanoylspermine (SPM-C4) and palmitoylspermine (SPM-C16), and evaluated the antioxidant activity of the added polyamines and their derivatives in a model system, oils, and oil-in-water emulsions. Furthermore, we investigated the antioxidant potential of added polyamines and their acylated derivatives in a model lipid system, oils and oil-in-water emulsions. Although polyamines showed low reactivity in standard *in vitro* antioxidant assays, they effectively inhibited the oxidation of methyl linolenate in the absence of other antioxidants, surpassing the performance of tocopherols. In linseed oil, SPM and SPM-C16 were the most effective in inhibiting hydroperoxide formation and stabilising polyunsaturated fatty acids. SPM, SPD, and both SPM derivatives outperformed some commonly used antioxidants such as butylated hydroxytoluene, gallic acid, and propyl gallate. Only SPM-C16 proved to be an effective antioxidant in emulsions, likely due to its long alkyl chain, which facilitates integration into lipid droplets. Both SPM and SPM-C16 exhibited no prooxidant activity within the concentration range of 0.1 to 0.8 mmol/kg, and they effectively stabilised cold-pressed linseed, sunflower, rapeseed, and soybean oils. Our results emphasise the significant potential of polyamines and their derivatives as novel natural antioxidants to improve the oxidative stability of various food lipid systems.

Keywords: polyamines, palmitoylspermine, antioxidants, plant oils, emulsions, oxidation

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

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

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Katedra za organsko kemijo, Ljubljana, e-mail: bogdan.stefane@fkkt.uni-lj.si

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

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

1 UVOD

Oksidacija ima pomemben vpliv na kakovost, varnost in hranilno vrednost jedilnih olj. Med procesom oksidacije večkrat nenasičene maščobne kisline (VNMK) reagirajo z molekularnim kisikom, kar vodi do nastanka različnih razgradnih produktov, kot so hidroperoksidi, aldehidi, ketoni in drugi oksidacijski produkti. Rastlinska olja z visoko vsebnostjo nenasičenih maščobnih kislin, še posebej esencialnih α -linolenske (n-3) in linolne (n-6), so oksidativno nestabilna in imajo krajši rok trajanja (Jurič in sod., 2020). Na oksidativno stabilnost olj lahko vplivajo nekatere prisotne komponente, na primer redoks aktivni kovinski ioni (železo, baker), ki pospešujejo oksidacijo in nastanek sekundarnih oksidacijskih produktov (Benedet in Shibamoto, 2008). Nepolarne spojine, kot so karotenoidi, tokoferoli in klorofili, v splošnem delujejo kot antioksidanti (Barouh in sod., 2022; Pérez-Gálvez in sod., 2020), vendar lahko pri višjih koncentracijah (Kim in sod., 2007), povišanih temperaturah (Wanasundara in Shahidi, 1998; Zeb in Murkovic, 2013) ali v prisotnosti svetlobe (Li in sod., 2018) izkazujejo tudi prooksidativno delovanje. Nerafinirana olja vsebujejo tudi polarne molekule z antioksidativnimi lastnostmi, vključno z različnimi fenolnimi spojinami (Mikołajczak in sod., 2021). Vendar pa lahko tudi polifenoli v določenih pogojih, zlasti v emulzijah, delujejo tudi kot prooksidanti (Tian in sod., 2022).

Za izboljšanje oksidativne stabilnosti olj je mogoče dodajati naravne antioksidante, kot so tokoferoli, karotenoidi in polifenoli, ali sintetične antioksidante, kot sta butilhidroksianizol (BHA) in butilhidroksitoluen (BHT). Čeprav so sintetični antioksidanti v splošnem učinkovitejši od naravnih antioksidantov, imajo lahko negativne zdravstvene učinke (Xu in sod., 2021). Zaradi tega narašča interes za iskanje antioksidantov, ki ne izkazujejo škodljivih učinkov oziroma imajo celo pozitiven vpliv na zdravje.

Med naravnimi spojinami so poliamini, še posebej spermidin (SPD) in spermin (SPM), prepoznani kot bioaktivne molekule s številnimi fiziološkimi funkcijami. Medicinske in biološke študije kažejo, da poliamini delujejo kot pomembni neencimski antioksidanti v organizmu, saj učinkovito zavirajo oksidacijo nukleinskih kislin (Ha in sod., 1998; Rider in sod., 2007) in fosfolipidov (Mirończuk-Chodakowska in sod., 2018; Murray Stewart in sod., 2018). *In vitro* študije so pokazale, da lahko poliamini upočasnijo oksidacijo membranskih lipidov (Bellé in sod., 2004) in stabilizirajo singletne kisikove radikale (Velikova in sod., 2007). Kljub temu, da so antioksidativne lastnosti poliaminov na ravni celic in organizmov dobro raziskane pa je njihova uporaba za izboljšanje oksidativne stabilnosti lipidnih živilskih sistemov še vedno razmeroma neraziskana. Nekatere študije sicer kažejo, da lahko poliamini upočasnijo oksidacijo lipidov tako v oljih živalskega (Løvaas, 1991) kot rastlinskega izvora (Torofunes in sod., 2013), vendar nadaljnjih raziskav na tem področju ni mogoče najti. To je presenetljivo, saj je prehranski vnos poliaminov zaželen zaradi njihovih potencialnih koristi za zdravje (Cao in sod., 2017; Pegg, 2016; Schroeder in sod., 2021) in dokazane povezave med visokim prehranskim vnosom SPD in dolgoživostjo (Eisenberg in sod., 2016; Kiechl in sod., 2018). Poleg tega je bilo potrjeno, da povečano uživanje SPM in SPD ne predstavlja tveganja za zdravje (Schwarz in sod., 2018).

Pomanjkanje raziskav na področju uporabe poliaminov v lipidnih sistemih bi lahko izhajalo iz določenih omejitev, povezanih z njihovimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi. Naravna prisotnost poliaminov v nerafiniranih oljih do sedaj še ni bila dokumentirana. Identifikacija in kvantifikacija poliaminov v oljih bi lahko odprla možnosti za njihovo ciljno dodajanje z namenom izboljšanja oksidativne stabilnosti in hranilne vrednosti olj. Ena glavnih omejitev za uporabo poliaminov v lipidnih sistemih je njihova visoka polarnost. Polarni antioksidanti so običajno učinkovitejši v homogenih sistemih, kot so olja, vendar so učinkoviti le, če so v tem sistemu topni. V heterogenih sistemih, kot so emulzije, so običajno neučinkoviti, saj se zaradi svoje hidrofilnosti porazdelijo v vodno fazo, zato pa so v takih sistemih bolj učinkoviti nepolarne ali amfifilne antioksidanti. Ta pojav je poznan kot polarni paradoks (Laguerre in sod., 2015). To omejuje uporabo polarnih spojin v kompleksnih živilskih matrikah, ki vsebujejo vodno fazo in so lipidi organizirani v strukture, kot so micelle ali liposomi. Potencialno rešitev za izboljšanje učinkovitosti polarnih antioksidantov v emulzijah predstavljanjihova kemijska modifikacija – lipofilizacija. V ta namen se nekateri živilski aditivi, kot so askorbinska (Watanabe, 2015), galna (Phonsatta in sod., 2017) in sinapijska kislina (Martinović in sod., 2019), uporabljajo tudi v obliki njihovih nepolarnih derivatov. Podobno je mogoče s kovalentno vezavo maščobnih kislin na SPM ali SPD sintetizirati amfifilne acilirane derivate

poliaminov (Viola in sod., 2009), vendar njihova antioksidativna aktivnost v oljih in emulzijah še ni bila ovrednotena.

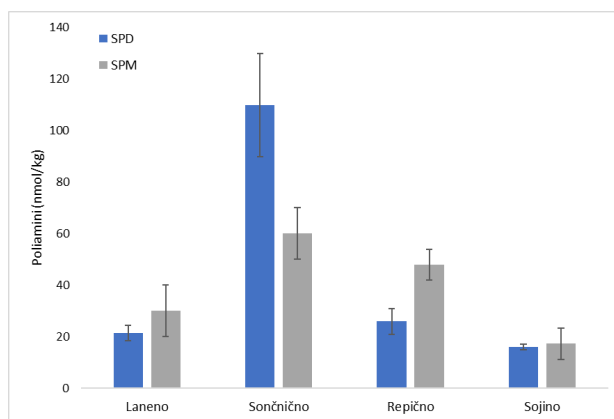
Dokazani mehanizmi antioksidativnega delovanja poliaminov temeljijo predvsem na njihovi sposobnosti lovljenja hidroksilnih radikalov ter stabilizacije singletnega kisika (Das in Misra, 2004). Nekatere študije dodatno nakazujejo, da lahko poliamini delujejo kot kelatorji redoks-aktivnih kovinskih ionov in omogočajo neposreden prenos vodika, kar je bilo pokazano z *in vitro* DPPH testom (Toro-Funes in sod., 2013). Kljub temu še ni znano, ali lahko poliamini učinkovito zavirajo oksidacijo VNMK v odsotnosti drugih bioaktivnih spojin, saj so bile dosedanje raziskave izvedene le v sistemih, ki so že vsebovali naravno prisotne antioksidante, kot so tokoferoli in karotenoidi.

V okviru naše raziskave smo določili naravno prisotne poliamine v različnih hladno stiskanih rastlinskih oljih. Poleg tega smo z *in vitro* antioksidativnimi testi in uporabo modelnega sistema ovrednotili antioksidativno učinkovitost dodanih poliaminov preko tvorbe hidroperoksidov in razmerja med večkrat nenasičenimi in nasičenimi maščobnimi kislinami. Nadalje smo sintetizirali acilirane derivate SPM ter preučili vpliv SPD, SPM in derivatov SPM na oksidativno stabilnost olja in emulzije olje-v-vodi (O/V).

2 POLIAMINI V HLADNO STISKANIH RASTLINSKIH OLJIH

Za določitev vsebnosti poliaminov v hladno stiskanih rastlinskih oljih smo uporabili postopek ekstrakcije, derivatizacije z danzil kloridom ter analizo z visoko ločljivostno tekočinsko kromatografijo (HPLC) z zaporedno vezanima UV-VIS in fluorescenčnim detektorjem.

Naši rezultati kažejo, da sta SPD in SPM naravno prisotna v hladno stiskanem lanenem, sončničnem, repičnem in sojinem olju (Slika 1). Najvišjo koncentracijo smo izmerili za SPD v sončničnem olju. V lanenih semenih je vsebnost poliaminov okrog 10 $\mu\text{mol/kg}$ (Wojtasik in sod., 2015), iz česar lahko sklepamo, da se iz semen ekstrahira le manjši delež teh spojin. Razlog za razmeroma nizko vsebnost poliaminov v oljih je njihova visoka polarnost, ki se še poveča zaradi protonacije amino skupin (Blagbrough in sod., 2011). Kljub temu lahko njihovo topnost v oljni fazi izboljšajo sledovi negativno nabitih fosfolipidov, prostih maščobnih kislin ter vode, ki so prisotni v nerafiniranih oljih.



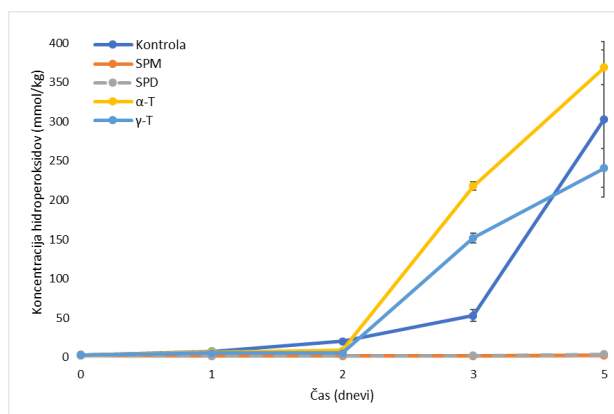
Slika 1: Vsebnost poliaminov v izbranih hladno stiskanih rastlinskih oljih

3 ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST POLIAMINOV V MODELNEM LIPIDNEM SISTEMU

Pripravili smo modelni lipidni sistem, sestavljen iz gliceril trioktanoata (80 % m/m) in metil linolenata (20 % m/m), ki predstavlja preprost sistem za oceno oksidativne stabilnosti VNMK. V modelni sistem smo dodali SPD in SPM ter α - in γ - tokoferol, v koncentraciji 1,0 mmol/kg. Modelni lipidni sistem brez in z dodanimi antioksidanti smo nato izpostavili pogojem pospešenega staranja (60 °C v temi), da bi pospešili proces oksidacije. Spremljali smo tvorbo primarnih oksidacijskih produktov – hidroperoksidov. Koncentracijo hidroperoksidov smo analizirali

z metodo, ki temelji na oksidaciji Fe^{2+} v Fe^{3+} ter tvorbi obarvanih kompleksov med Fe^{3+} in barvilom ksilenol oranžno, kar omogoča spektrofotometrično kvantifikacijo.

V predhodnih raziskavah je bil antioksidativni učinek poliaminov pokazan le v oljih, ki so že vsebovala druge naravno prisotne antioksidante (Løvaas, 1991; Toro-Funes in sod., 2013). V modelnem sistemu sta oba poliamina izkazala večjo antioksidativno učinkovitost v primerjavi z α - in γ -tokoferolom (Slika 2). Rezultati naše študije tako prvič potrjujejo, da lahko poliamini delujejo kot učinkoviti antioksidanti tudi v odsotnosti tokoferolov ali drugih bioaktivnih spojin.



Slika 2: Koncentracija hidroperoksidov v modelnem lipidnem sistemu z 1,0 mmol/kg antioksidanta (SPM, spermin; SPD, spermidin; α -T, α -tokoferol; γ -T, γ -tokoferol), v pogojih pospešenega straranja (60 °C v temi).

4 ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST POLIAMINOV V *IN VITRO* TESTIH

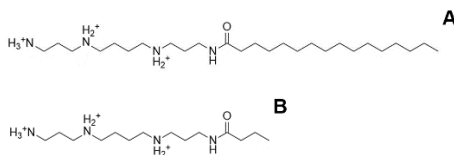
Po dosedanjih podatkih iz literature ni enoznačnih dokazov o mehanizmu antioksidativnega delovanja poliaminov. V okviru naše študije smo v različnih *in vitro* testih (DPPH, ABTS in Folin-Ciocalteu (F-C)) preverili antioksidativno aktivnost poliaminov SPD in SPM ter diamina putrescina (PUT), ki ne vsebuje sekundarnih amino skupin. Nobeden od naštetih aminov ni bil aktiven pri koncentracijah do 1,0 mmol/L, kar je višje od tipičnih učinkovitih koncentracij fenolnih antioksidantov in Troloxa v teh testih (Abramovič in sod., 2018). Ti rezultati so v skladu s predhodnimi ugotovitvami, da primarne ali sekundarne amino skupine aminokislin in peptidov niso ključne za aktivnost v DPPH in ABTS testih (Zheng in sod., 2015, 2016).

Poleg sposobnosti lovljenja radikalov je bil kot možen način delovanja predlagan tudi mehanizem keliranja redoks-aktivnih ionov (Jastrzab in sod., 2017). Analizirali smo sposobnost tvorbe kelatnih kompleksov s Fe^{2+} . V prisotnosti PUT, SPD in SPM, tudi ob petkratnem molarjem presežku (1,0 mmol/kg), nismo zaznali inhibicije vezave Fe^{2+} na ferozin. Ena od možnih razlag je visoka stopnja protonacije aminov pri izbranih testnih pogojih (pH = 7; pKa vrednosti za SPM: 10,9; 10,1; 8,8 in 8,0), kar zmanjšuje njihovo interakcijo s kationi. Ti podatki kažejo, da kelacijsko delovanje najverjetneje ne prispeva bistveno k njihovemu antioksidativnemu učinku. Najverjetnejša mehanizma antioksidativnega delovanja poliaminov v oljih ostajata lovljenje hidroksilnih radikalov ter stabilizacija singletnega kisika (Das in Misra, 2004).

5 SINTEZA ACILIRANIH DERIVATOV SPERMINA

V okviru študije smo sintetizirali acilirane derivate SPM, z vezavo maščobnih kislin različnih dolžin ogljikove verige na SPM (Viola in sod., 2009). Za sintezo palmitoilpermina (SPM-C16) smo uporabili palmitoil klorid, medtem ko smo za sintezo butanoilpermina (SPM-C4) uporabili butanojski anhidrid. Kemijski strukturi obeh derivatov sta prikazani na Sliki 3.

Pridobljene spojine smo okarakterizirali z ESI-TOF spektrometrijo, ^1H NMR spektroskopijo ter elementno (CHN) analizo, s čimer smo potrdili uspešno sintezo in čistočo produktov.



Slika 3: Struktura N^1 -aciliranih derivatov spermina pri fiziološkem pH: (A) N^1 -palmitoilspermin; (B) N^1 -butanoilspermin.

6 OKSIDATIVNA STABILIZACIJA OLJ S POLIAMINI IN DERIVATI SPERMINA

6.1 PRIPRAVA VZORCEV OLJA

Kot osnovo za naše eksperimente smo uporabili hladno stiskano laneno olje, ki ima visoko vsebnost VNMK, zlasti esencialne omega-3 α -linolenske maščobne kisline. Zaradi svoje sestave je laneno olje še posebej občutljivo na oksidacijo in zato primerno za preučevanje oksidativne stabilnosti. V olje smo dodali poliamine (SPD, SPM, PUT), derivate SPM (SPM-C4 in SPM-C16) ter izbrane antioksidante, ki se pogosto uporabljajo v živilstvu (BHT, galna kislina (GK) in propil galat (PG)). Končna koncentracija dodanih spojin je znašala 0,8 mmol/kg. Tako pripravljene vzorce smo nato izpostavili pogojem pospešenega staranja (60 °C v temi).

6.2 TVORBA HIDROPEROKSIDOV V LANENEM OLJU

Koncentracijo hidroperoksidov v olju smo določili na enak način kot je bilo opisano pri modelnem lipidnem sistemu, torej s spektrofotometrično analizo kompleksov med Fe^{3+} in barvilom ksilenol oranžno.

SPD, SPM in derivata SPM so v lanenem olju učinkoviteje zavirali tvorbo hidroperoksidov kot GK ter pogosto uporabljena sintetična antioksidanta BHT in PG (Preglednica 1). Med vsemi preučevanimi spojinami je SPM najboljše zaščitil olje pred oksidacijo. Po 9 dneh pospešenega staranja je bila koncentracija hidroperoksidov v vzorcu s SPM več kot tridesetkrat nižja v primerjavi s kontrolo in se je povečala za manj kot petkrat glede na začetno koncentracijo hidroperoksidov v lanenem olju. Antioksidativna učinkovitost poliaminov je bila v pozitivni korelaciji s številom amino skupin, pri čemer je najvišjo učinkovitost izkazal SPM (štiri amino skupine), najnižjo pa PUT (dve amino skupini). SPD in SPM poleg primarnih vsebujeta tudi sekundarne amino skupine, zaradi česar imata večjo sposobnost za lovljenje hidroksilnih radikalov in stabilizacijo singletnega kisika (Das in Misra, 2004).

Med najbolj učinkovitimi antioksidanti v lanenem olju sta bila tudi oba derivata SPM, pri čemer je bil SPM-C16 učinkovitejši od SPM-C4. Oba derivata sta bila učinkovitejša od SPD in PUT, medtem ko je bila njuna antioksidativna aktivnost nekoliko nižja kot pri nederivatiziranemu SPM. To lahko pripišemo vplivu acilne verige, ki lahko sterično ovira dostop molekule do reaktivnega mesta. Poleg tega lahko acilacija primarne amino skupine vodi do zmanjšane antioksidativne aktivnosti.

Preglednica 1: Koncentracija hidroperoksidov (mmol/kg) v lanenem olju z dodatkom 0,8 mmol/kg antioksidanta (PUT, putrescin; SPD, spermidin; SPM, spermin; SPM-C4, butanoilspermin; SPM-C16, palmitoilspermin; BHT, butilhidroksitoluen; GK, galna kislina; PG propil galat) med pospešenim staranjem (60 °C v temi).

	Čas (dnevi)					
	0	1	3	5	7	9
Kontrola	2,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	34,6 ± 0,5	84 ± 2	183 ± 10	370 ± 22
SPM	2,8 ± 0,3	2,6 ± 0,5	2,5 ± 0,2	5 ± 2	6,9 ± 0,5	11,6 ± 0,5
SPM-C4	3,2 ± 0,4	2,4 ± 0,1	3,7 ± 0,3	7,5 ± 0,2	25 ± 2	59 ± 5
SPM-C16	2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,1	3,2 ± 0,2	5,2 ± 0,7	12 ± 2	27,6 ± 0,3
SPD	2,8 ± 0,0	2,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2	15 ± 2	47 ± 2	91 ± 8
PUT	2,6 ± 0,0	3,0 ± 0,1	7,2 ± 0,3	32 ± 1	80 ± 8	151 ± 15
BHT	2,5 ± 0,2	4,3 ± 0,1	16,7 ± 0,5	41 ± 2	74 ± 8	140 ± 8
GK	2,7 ± 0,0	4,2 ± 0,2	16,4 ± 0,8	49 ± 4	105 ± 7	241 ± 11
PG	2,8 ± 0,1	4,1 ± 0,0	9,6 ± 0,3	17,9 ± 0,2	30 ± 2	60 ± 4

Rezultate pridobljene z analizo tvorbe hidroperoksidov smo potrdili tudi z metodo Rancimat. Ta metoda temelji na pospeševanju procesa oksidacije z izpostavitvijo vzorcev visoki temperaturi. Med segrevanjem olja nastajajo hlapne kisline, ki povečajo prevodnost raztopine in omogočajo določitev časa indukcije oksidacije (OIT). V naši raziskavi smo vzorce lanenega olja, brez in z dodanimi antioksidanti, inkubirali pri 110 °C in pretoku zraka 20 L/h. Najkrajši OIT smo določili pri kontrolnem vzorcu (2,24 h), največjo zaščito pa smo ugotovili pri vzorcu z dodanim SPM (5,38 h) in SPM-C16 (4,8 h), kar je skladno z rezultati analize tvorbe hidroperoksidov (Preglednica 1). S tem smo potrdili, da nizke koncentracije hidroperoksidov v olju z dodanimi poliamini in derivati SPM niso posledica njihove razgradnje, temveč so omenjene spojine dejansko zavrle tvorbo hidroperoksidov.

V literaturi je vpliv acilacije polarnih antioksidantov na njihovo antioksidativno učinkovitost pogosto obravnavan. V primeru askorbinske kisline je bilo ugotovljeno, da imajo njeni acilirani derivati višjo učinkovitost v olju kot sama askorbinska kislina. Daljša veriga aciliranih askorbatov dodatno izboljša antioksidativno zaščito (Watanabe, 2015). Vpliv acilacije na stabilizacijo lipidov je bil preučen tudi pri nekaterih fenolnih spojinah. V primeru rutina so bili učinkoviti le derivati z verigo dolžine dvanajst ali več ogljikovih atomov, medtem ko neacilirani rutin in derivati s krajšimi acilnimi verigami niso imeli zaščitnega učinka v olju (Viskupicova in sod., 2010). Za galno kislino je bilo v konvencionalnem sojinem olju ugotovljeno, da je učinkovitejša od svojih aciliranih derivatov (A. Li in sod., 2021; Phonsatta in sod., 2017), v prečiščenem sojinem olju pa so acilirani derivati učinkovitejši od neacilirane galne kisline (Delfanian in sod., 2023).

6.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA LANENEGA OLJA

Sestavo maščobnih kislin vzorcev smo določili z *in situ* transesterifikacijo z metanolom. Metilne estre maščobnih kislin smo kvantificirali z uporabo plinske kromatografije (GC).

VNMK, še posebej n-3, so izjemno občutljive na oksidacijo (Saini in sod., 2021), medtem ko so nasičene maščobne kisline (NMK) bistveno bolj odporne na oksidativne spremembe (Andreotti in sod., 2006). Spremembe v maščobnokislinski sestavi so eden ključnih pokazateljev oksidacije, saj se vsaka strukturna sprememba določene maščobne kisline odraža v njenem zmanjšanem deležu. Za vsak vzorec smo izračunali razmerje med vsoto dveh prevladujočih VNMK (linolna in α -linolenska) ter vsoto dveh glavnih NMK (palmitinska in stearinska). Ker so NMK bolj stabilne kot VNMK, lahko spremembe tega razmerja pripišemo oksidaciji VNMK.

Preglednica 2: Razmerje med večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami in nasičenimi maščobnimi kislinami v lanenem olju z dodatkom 0,8 mmol/kg antioksidanta (PUT, putrescin; SPD, spermidin; SPM, spermin; SPM-C4, butanoilspermin; SPM-C16, palmitoilspermin; BHT, butilhidroksitoluen; GK, galna kislina; PG, propil galat) med pospešenim staranjem (60 °C v temi).

	Čas (dnevi)	
	5	9
Kontrola ($t_0 = 6,37 \pm 0,06$)	6,12 $\pm$ 0,03	5,07 $\pm$ 0,05
SPM	6,31 $\pm$ 0,01	6,37 $\pm$ 0,03
SPM-C4	6,29 $\pm$ 0,07	6,19 $\pm$ 0,03
SPM-C16	6,32 $\pm$ 0,03	6,28 $\pm$ 0,04
SPD	6,29 $\pm$ 0,02	6,13 $\pm$ 0,01
PUT	6,29 $\pm$ 0,03	5,87 $\pm$ 0,00
BHT	6,26 $\pm$ 0,02	5,97 $\pm$ 0,03
GK	6,24 $\pm$ 0,01	5,64 $\pm$ 0,04
PG	6,32 $\pm$ 0,02	6,27 $\pm$ 0,02

Naši rezultati kažejo, da se je razmerje med VNМК in NMK v kontrolnem vzorcu pomembno zmanjšalo že po 5 dneh inkubacije, po 9 dneh pa je bilo kemično spremenjenih že približno 20 % VNМК. Dodatek antioksidantov je učinkovito zaviral oksidativno razgradnjo VNМК. V skladu z rezultati tvorbe hidroperoksidov (Preglednica 1) in OIT so SPM, SPM-C4 in SPM-C16 ter PG najbolj učinkovito stabilizirali VNМК v lanenem olju. Najmanj učinkovita je bila GK.

6.4 VPLIV KONCENTRACIJETER VRSTE OLJA NA ANTIOKSIDATIVNO AKTIVNOST SPM IN SPM-C16

Na podlagi dosedanjih rezultatov sta se SPM in njegov derivat SPM-C16 v koncentraciji 0,8 mmol/kg izkazala kot najučinkovitejša za zaščito lanenega olja pred oksidacijo. Da bi ovrednotili koncentracijsko odvisnost njunega delovanja smo v laneno olje dodali nižje koncentracije teh dveh antioksidantov, in sicer 0,1, 0,2, 0,4 mmol/kg. Nastajanje hidroperoksidov smo spremljali po enakem postopku kot v prejšnjih eksperimentih, ter iz razmerje med koncentracijo hidroperoksidov v kontrolnem vzorcu in v vzorcu z dodanim antioksidantom izračunali zaščitne faktorje (ZF).

Pri vseh analiziranih koncentracijah SPM in SPM-C16 so bile vrednosti ZF višje od 1,0, kar pomeni, da nobena od spojin, v koncentracijskem območju med 0,1 in 0,8 mmol/kg, ni izkazovala prooksidativnega delovanja. Ta lastnost je bistvena za potencialno uporabo spojin kot antioksidantov v lipidnih sistemih. To namreč predstavlja pomembno omejitev pri uporabi α -tokoferola (Kim in sod., 2007) in β -karotena (Zeb in Murkovic, 2013), saj oba lahko pri koncentracijah, višjih od nekaj sto μ mol/kg, delujeta prooksidativno. Vzorci z višjimi koncentracijami SPM in SPM-C16 so imeli tudi višje ZF, kar potrjuje njihovo večjo antioksidativno učinkovitost. Pri nižjih koncentracijah so se vrednosti ZF znižale tekom inkubacije, kar nakazuje, da se učinkovitost antioksidanta s časom zmanjšuje. To lahko pripišemo kemični reaktivnosti SPM in njegovega derivata SPM-C16 v oksidacijskih procesih, saj se antioksidanta ob stabilizaciji reaktivnih kisikovih spojin porabljata in se njuna koncentracija v olju zmanjšuje, kar je pogosta značilnost antioksidantov s takšnim mehanizmom delovanja (Yalcin in Schreiner, 2018).

Ker je antioksidativna aktivnost spojin pogosto odvisna od vrste uporabljenega olja (Shadyro in sod., 2017), smo v nadaljevanju antioksidativno aktivnost SPM in SPM-C16 ovrednotili še v hladno stiskanem sončničnem, repičnem in sojinem olju. Enako kot pri lanenem olju smo analizirali tvorbo hidroperoksidov ter spremljali spremembe v maščobnokislinski sestavi.

Tako SPM kot SPM-C16, v koncentraciji 0,8 mmol/kg, sta učinkovito zavirala nastanek hidroperoksidov v vseh treh izbranih oljih. Podobno kot pri lanenem olju (Preglednica 1 in 2) je bil SPM učinkovitejši od derivata SPM-C16. Ob koncu 9-dnevne inkubacije so bile koncentracije hidroperoksidov v vseh treh oljih nekoliko nižje kot v lanenem olju. Med pospešenim staranjem je prišlo do pomembnih sprememb v maščobnokislinski sestavi kontrolnih

vzorcev pri vseh treh oljih, vendar so bile spremembe manj izrazite kot pri lanenem olju (Preglednica 2). SPM in SPM-C16 sta tudi v sončničnem, repičnem in sojinem olju učinkovito stabilizirala VNМК. Razlike obeh analiz v primerjavi z lanenim oljem so posledica tega, da ima laneno olje izmed vseh najvišjo vsebnost VNМК, vključno z α -linolensko maščobno kislino. Naše ugotovitve tako potrjujejo, da SPM in SPM-C16 izkazujeta antioksidativno delovanje v različnih hladno stiskanih oljih.

7 OKSIDATIVNA STABILIZACIJA EMULZIJ O/V S POLIAMINI IN DERIVATI SPERMINA

7.1 PRIPRAVA VZORCEV EMULZIJE

Pripravili smo emulzije O/V s hladno stiskanim lanenim oljem (10 %) in emulgatorjem Tween 80 (2 %). Dodali smo vodne raztopine poliaminov, derivatov SPM in drugih antioksidantov, v končni koncentraciji 0,8 mmol/kg, ter vse sestavine homogenizirali. Vzorce smo nato izpostavili pogojem pospešenega staranja (60 °C v temi).

7.2 TVORBA HIDROPEROKSIDOV V EMULZIJI O/V IZ LANENEGA OLJA

Oksidacija v emulzijah na splošno poteka hitreje kot v samih oljih, zaradi večje površine lipidov, difuzije kisika in stika z vodno fazo, ki lahko vsebuje katalizatorje oksidacije. To smo potrdili tudi v naši raziskavi, saj je bila v emulzijah O/V iz lanenega olja hitrost tvorbe hidroperoksidov (Preglednica 3) bistveno višja kot v samem lanenem olju (Preglednica 1).

Preglednica 3: Koncentracija hidroperoksidov (mmol/kg) v emulziji O/V iz lanenega olja z dodatkom 0,8 mmol/kg antioksidanta (PUT, putrescin; SPD, spermidin; SPM, spermin; SPM-C4, butanoilspermin; SPM-C16, palmitoilspermin; BHT, butilhidroksitoluen; GK, galna kislina; PG propil galat) med pospešenim staranjem (60 °C v temi).

	Čas (dnevi)				
	0	1	3	5	7
Kontrola	6 ± 2	55 ± 1	445 ± 5	330 ± 20	240 ± 30
SPM	4,0 ± 0,3	30 ± 2	310 ± 20	290 ± 10	230 ± 20
SPM-C4	3,8 ± 0,2	34 ± 2	400 ± 10	246 ± 7	218 ± 6
SPM-C16	3,8 ± 0,3	12,0 ± 0,3	17,5 ± 0,4	26 ± 2	46 ± 7
SPD	4,1 ± 0,2	44 ± 2	410 ± 10	308 ± 2	240 ± 60
PUT	4,4 ± 0,3	46,4 ± 0,7	380 ± 30	320 ± 10	180 ± 50
BHT	4,3 ± 0,6	13,6 ± 0,4	29,6 ± 0,3	45 ± 1	87 ± 2
GK	4,3 ± 0,2	8,8 ± 0,1	24,5 ± 0,6	69 ± 3	350 ± 10
PG	4,5 ± 0,3	18,5 ± 0,2	62 ± 2	365 ± 2	371 ± 7

V večini vzorcev, razen pri SPM-C16, BHT in GK, smo opazili značilen potek oksidacije z začetnim povečanjem koncentracije hidroperoksidov, ki mu je sledila njihova razgradnja. Čeprav se je SPM v lanenem olju izkazal kot najučinkovitejši antioksidant, v emulziji ni učinkovito zaviral nastanka hidroperoksidov. Podobno smo ugotovili tudi pri SPM-C4, ki v ni pokazal stabilizacijskega učinka. Nasprotno pa je bil SPM-C16 med vsemi testiranimi spojinami najučinkovitejši pri zaviranju tvorbe hidroperoksidov v emulziji.

7.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA EMULZIJE O/V IZ LANENEGA OLJA

Oksidacija lipidov v emulzijah je povzročila pomembne spremembe v razmerju med VNМК in NMK (Preglednica 4). Obseg razgradnje VNМК je bil v emulziji bistveno večji kot v samem lanenem olju (Preglednica 2). Pri vzorcu, ki je vseboval SPM, se je razmerje v 7 dneh inkubacije zmanjšalo za trikrat in se ni statistično razlikovalo od kontrolnega vzorca. Skladno z rezultati tvorbe hidroperoksidov (Preglednica 3) derivat s krajšo acilno verigo, SPM-C4, ni pokazal zaščitnega učinka, medtem ko je SPM-C16 tudi v emulziji ter učinkovito zmanjšal spremembe v maščobnokislinski sestavi.

Preglednica 4: Razmerje med večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami in nasičenimi maščobnimi kislinami v emulziji O/V iz lanenega olja z dodatkom 0,8 mmol/kg antioksidanta (PUT, putrescin; SPD, spermidin; SPM, spermin; SPM-C4, butanoilspermin; SPM-C16, palmitoilspermin; BHT, butilhidroksitoluen; GK, galna kislina; PG, propil galat) med pospešenim staranjem (60 °C v temi).

	Čas (dnevi)	
	4	7
Kontrola ($t_0 = 6,24 \pm 0,06$)	4,06 $\pm$ 0,09	2,19 $\pm$ 0,02
SPM	4,31 $\pm$ 0,04	2,2 $\pm$ 0,1
SPM-C4	4,3 $\pm$ 0,6	2,08 $\pm$ 0,02
SPM-C16	5,9 $\pm$ 0,4	5,55 $\pm$ 0,07
SPD	3,49 $\pm$ 0,06	1,90 $\pm$ 0,04
PUT	3,6 $\pm$ 0,1	1,88 $\pm$ 0,04
BHT	6,03 $\pm$ 0,02	5,97 $\pm$ 0,02
GK	6,03 $\pm$ 0,05	4,49 $\pm$ 0,06
PG	5,85 $\pm$ 0,04	3,5 $\pm$ 0,1

Dosedanje študije, ki so preučevale vpliv lipofilizacije na učinkovitost antioksidantov v emulzijah, izpostavljajo kompleksnost oksidacijskih procesov v heterogenih sistemih ter potrjujejo, da je antioksidativna učinkovitost tesno povezana z lokalizacijo spojine znotraj emulzije. Pri askorbinski kislini je nederivatizirana oblika učinkovitejša, kadar so prooksidanti prisotni v vodni fazi. Acilirani derivati askorbinske kisline (Watanabe, 2015), kot tudi acilirani derivati polifenolov, kot sta rutin (Viskupicova in sod., 2010) in GK (Phonsatta in sod., 2017), z daljšimi verigami, so učinkovitejši, kadar se prooksidanti nahajajo v lipidni fazi. Prav tako je bilo ugotovljeno, da se antioksidativna aktivnost derivatov z dolžino alkilne verige povečuje le do določene meje (Laguerre in sod., 2015; Medina in sod., 2009).

V lipidnih sistemih je meja med lipidno in vodno fazo ključno področje za začetek in nadaljevanje oksidacije. Posledično je učinkovitost antioksidantov v teh sistemih močno odvisna od njihove lokalizacije na fazni meji. V naši raziskavi so se poliamini in SPM-C4 porazdelili predvsem v vodni fazi, medtem ko se je SPM-C16 zaradi daljše maščobne verige vgradil v lipidne kapljice, kar smo potrdili z meritvami zeta potenciala.

8 ZAKLJUČEK

Poliamini so molekule z dokazanimi pozitivnimi učinki na zdravje, zato je njihova prisotnost v prehrani zaželena. Njihovo antioksidativno delovanje je bilo večkrat potrjeno na ravni celic in organizmov, uporaba poliaminov za oksidativno stabilizacijo živilskih sistemov pa je slabo raziskana. V naši študiji smo potrdili, da sta SPD in SPM naravno prisotna v hladno stiskanem lanenem, repičnem, sončničnem in sojinem olju. Ugotovili smo, da poliamini niso reaktivni v *in vitro* antioksidativnih testih, kot so DPPH, ABTS in F-C, prav tako ne vplivajo na vezavo Fe²⁺ na ferozin. Kljub temu sta SPD in SPM izkazala izjemno antioksidativno učinkovitost pri preprečevanju oksidacije metil linolenata v modelnem sistemu, pri čemer sta bila bistveno učinkovitejša od tokoferolov.

Z namenom celovite ocene antioksidativnega učinka poliaminov v oljih in emulzijah smo sintetizirali lipofilizirane derivate SPM, specifično derivat z butanojsko (SPM-C4) in palmitinsko (SPM-C16) maščobno kislino. Antioksidativno učinkovitost poliaminov in aciliranih derivatov SPM smo primerjali s pogosto uporabljenimi antioksidanti, in sicer z BHT, GK in PG. V lanenem olju sta se SPM in derivat SPM-C16 izkazala kot najučinkovitejša pri zaviranju tvorbe hidroperoksidov, podaljševanju OIT in stabilizaciji VNMK. Njuna učinkovitost je bila odvisna od koncentracije, pri čemer v območju med 0,1 in 0,8 mmol/kg nismo zaznali prooksidativnega delovanja. SPM in SPM-C16 sta prav tako učinkovito zavirala oksidacijo v hladno stiskanem sončničnem, repičnem in sojinem olju. V emulziji O/V se je kot učinkovit antioksidant izkazal le derivat SPM-C16, kar je mogoče pripisati njegovi sposobnosti za vgradnjo v lipidne kapljice, zaradi prisotnosti dolge alkilne verige.

Naravna prisotnost zdravju koristnih poliaminov SPD in SPM v rastlinskih oljih ter izrazit stabilizacijski učinek ob obogatitvi olj in emulzij s poliamini in njihovimi aciliranimi derivati odpira nove možnosti za stabilizacijo

lipidov s temi bioaktivnimi spojinami. Za celovito oceno uporabnosti in možnosti vključitve derivatov poliaminov kot sestavin v živila so potrebne nadaljnje raziskave, ki bodo zajemale njihovo funkcionalnost (vključno z derivati drugih poliaminov ter vplivom dolžine alkilne verige), stabilnost (oksidativno razgradnjo in hidrolizo) ter varnost (citotoksičnost, antimikrobne učinke in *in vivo* študije).

9 VIRI

- Abramovič H., Grobin B., Poklar Ulrih N., Cigić B. 2018. Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin–Ciocalteu. *Journal of Chemistry*, 2018: e4608405, <https://doi.org/10.1155/2018/4608405>
- Andreotti A., Bonaduce I., Colombini M. P., Gautier G., Modugno F., Ribechini E. 2006. Combined GC/MS analytical procedure for the characterization of glycerolipid, waxy, resinous, and proteinaceous materials in a unique paint microsample. *Analytical Chemistry*, 78, 13: 4490–4500, <https://doi.org/10.1021/ac0519615>
- Barouh N., Bourlieu-Lacanal C., Figueroa-Espinoza M. C., Durand E., Villeneuve P. 2022. Tocopherols as antioxidants in lipid-based systems: The combination of chemical and physicochemical interactions determines their efficiency. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21, 1: 642–688, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12867>
- Bellé N. A. V., Dalmolin G. D., Fonini G., Rubin M. A., Rocha J. B. T. 2004. Polyamines reduces lipid peroxidation induced by different pro-oxidant agents. *Brain Research*, 1008, 2: 245–251, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.02.036>
- Benedet J. A., Shibamoto T. 2008. Role of transition metals, Fe(II), Cr(II), Pb(II), and Cd(II) in lipid peroxidation. *Food Chemistry*, 107, 1: 165–168, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.076>
- Blagbrough I. S., Metwally A. A., Geall A. J. 2011. Measurement of Polyamine pKa Values. V: *Polyamines: Methods and Protocols*. Pegg Anthony E., Casero Jr. Robert A. (ur.). Totowa, NJ, Humana Press: 493–503, https://doi.org/10.1007/978-1-61779-034-8_32
- Cao W., Wu X., Jia G., Zhao H., Chen X., Wu C., Tang J., Wang J., Cai J., Liu G. 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, <https://doi.org/10.1080/1745039X.2017.1314610>
- Das K. C., Misra H. P. 2004. Hydroxyl radical scavenging and singlet oxygen quenching properties of polyamines. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 262, 1: 127–133, <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000038227.91813.79>
- Delfanian M., Sahari M. A., Barzegar M., Ahmadi Gavlighi H., Barba F. J. 2023. Interfacial behavior of gallic acid and its alkyl esters in stripped soybean oil in combination with monoacylglycerol and phospholipid. *Food Chemistry*, 413: 135618, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135618>
- Eisenberg T., Abdellatif M., Schroeder S., Primessnig U., Stekovic S., Pendl T., Harger A., Schipke J., Zimmermann A., Schmidt A., Tong M., Ruckenstuhl C., Dammbrueck C., Gross A. S., Herbst V., Magnes C., Trausinger G., Narath S., Meinitzer A., Hu Z., ... Madeo F. 2016. Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine. *Nature Medicine*, 22, 12: 1428–1438, <https://doi.org/10.1038/nm.4222>
- Ha H. C., Sirisoma N. S., Kuppusamy P., Zweier J. L., Woster P. M., Casero Jr. R. A. 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, <https://doi.org/10.1073/pnas.95.19.11140>
- Jastrzab R., Kaczmarek M., Nowak M., Trojanowska A., Zabiszak M. 2017. Complexes of polyamines and their derivatives as living system active compounds. *Coordination Chemistry Reviews*, 351 <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.05.001>
- Jurić S., Jurić M., Siddique A., Fathi M. 2020. Vegetable Oils Rich in Polyunsaturated Fatty Acids: Nanoencapsulation Methods and Stability Enhancement. *Food Reviews International*, 38: 1–38, <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1717524>
- Kiechl S., Pechlaner R., Willeit P., Notdurfter M., Paulweber B., Willeit K., Werner P., Ruckenstuhl C., Iglseder B., Weger S., Mairhofer B., Gartner M., Kedenko L., Chmelikova M., Stekovic S., Stuppner H., Oberhollenzer F., Kroemer G., Mayr M., Eisenberg T., Tilg H., Madeo F., Willeit J. 2018. Higher spermidine intake is linked to lower mortality: A prospective population-based study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108, 2: 371–380, <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy102>
- Kim H. j., Lee H. o., Min D. b. 2007. Effects and Prooxidant Mechanisms of Oxidized α -Tocopherol on the Oxidative Stability of Soybean Oil. *Journal of Food Science*, 72, 4: C223–C230, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00339.x>

- Laguette M., Bayrasy C., Panya A., Weiss J., McClements D. J., Lecomte J., Decker E. A., Villeneuve P. 2015. What Makes Good Antioxidants in Lipid-Based Systems? The Next Theories Beyond the Polar Paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55, 2: 183–201, <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650335>
- Li A., Zhao M.-T., Yin F.-W., Zhang M., Liu H.-L., Zhou D.-Y., Shahidi F. 2021. Antioxidant effects of gallic acid alkyl esters of various chain lengths in oyster during frying process. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 6: 2938–2945, <https://doi.org/10.1111/ijfs.14933>
- Li X., Ruinan Y., Lv C., Chen L., Zhang L., Ding X., Zhang W., Zhang Q., Hu C., Li P. 2018. Effect of Chlorophyll on Lipid Oxidation of Rapeseed Oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121 <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800078>
- Løvaas E. 1991. Antioxidative effects of polyamines. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68, 6: 353–358, <https://doi.org/10.1007/BF02663749>
- Martinović N., Poklar Ulrih N., Abramović H. 2019. Sinapic Acid and its Derivatives Increase Oxidative Stability in Different Model Lipid Systems. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 4 <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800326>
- Medina I., Lois S., Alcántara D., Lucas R., Morales J. C. 2009. Effect of lipophilization of hydroxytyrosol on its antioxidant activity in fish oils and fish oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 20: 9773–9779, <https://doi.org/10.1021/jf9023867>
- Mikołajczak N., Tańska M., Ogrodowska D. 2021. Phenolic compounds in plant oils: A review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability. *Trends in Food Science & Technology*, 113 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.046>
- Mironczuk-Chodakowska I., Witkowska A. M., Zujko M. E. 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63, 1: 68–78, <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>
- Murray Stewart T., Dunston T. T., Woster P. M., Casero R. A. 2018. Polyamine catabolism and oxidative damage. *Journal of Biological Chemistry*, 293, 48: 18736–18745, <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.003337>
- Pegg A.E. 2016. Functions of polyamines in mammals. *Journal of Biological Chemistry*, 291, 29: 14904–14912, <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.731661>
- Pérez-Gálvez A., Viera I., Roca M. 2020. Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants. *Antioxidants*, 9, 6: 505, <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>
- Phonsatta N., Deetae P., Luangpituksa P., Grajeda-Iglesias C., Figueroa-Espinoza M. C., Le Comte J., Villeneuve P., Decker E. A., Visessanguan W., Panya A. 2017. Comparison of Antioxidant Evaluation Assays for Investigating Antioxidative Activity of Gallic Acid and Its Alkyl Esters in Different Food Matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 34: 7509–7518, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02503>
- Rider J. E., Hacker A., Mackintosh C. A., Pegg A. E., Woster P. M., Casero R. A. 2007. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*, 33, 2: 231–240, <https://doi.org/10.1007/s00726-007-0513-4>
- Saini R. K., Prasad P., Sreedhar R. V., Akhilender Naidu K., Shang X., Keum Y.-S. 2021. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs): Emerging Plant and Microbial Sources, Oxidative Stability, Bioavailability, and Health Benefits—A Review. *Antioxidants*, 10, 10: 1627, <https://doi.org/10.3390/antiox10101627>
- Schroeder S., Hofer S. J., Zimmermann A., Pechlaner R., Dammbrueck C., Pendl T., Marcello G. M., Pogatschnigg V., Bergmann M., Müller M., Gschiel V., Ristic S., Tadic J., Iwata K., Richter G., Farzi A., Üçal M., Schäfer U., Poglitsch M., Royer P., Mekis R., Agreiter M., Tölle R. C., Sótónyi P., Willeit J., Mairhofer B., Niederkofler H., Pallhuber I., Rungger G., Tilg H., DeFrancesco M., Marksteiner J., Sinner F., Magnes C., Pieber T. R., Holzer P., Kroemer G., Carmona-Gutierrez D., Scorrano L., Dengjel J., Madl T., Sedej S., Sigrist S. J., Rácz B., Kiechl S., Eisenberg T., Madeo F. 2021. Dietary spermidine improves cognitive function. *Cell Reports*, 35, 2: 108985, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108985>
- Schwarz C., Stekovic S., Wirth M., Benson G., Royer P., Sigrist S. J., Pieber T., Dammbrueck C., Magnes C., Eisenberg T., Pendl T., Bohlken J., Köbe T., Madeo F., Flöel A. 2018. Safety and tolerability of spermidine supplementation in mice and older adults with subjective cognitive decline. *Aging*, 10, 1: 19–33, <https://doi.org/10.18632/aging.101354>
- Shadyro O. I., Sosnovskaya A. A., Edimecheva I. P. 2017. Flaxseed oil stabilization using natural and synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119, 10: 1700079, <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700079>

- Tian L., Zhang S., Yi J., Zhu Z., Cui L., Andrew Decker E., Julian McClements D. 2022. Antioxidant and prooxidant activities of tea polyphenols in oil-in-water emulsions depend on the level used and the location of proteins. *Food Chemistry*, 375: 131672, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131672>
- Toro-Funes N., Bosch-Fusté J., Veciana-Nogués M. T., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M. C. 2013. In vitro antioxidant activity of dietary polyamines. *Food Research International*, 51, 1: 141–147, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.036>
- Velikova V. B., Edreva A. M., Tsonev T. D., Jones H. G. 2007. Singlet oxygen quenching by phenylamides and their parent compounds. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 62, 11–12: 833–838, <https://doi.org/10.1515/znc-2007-11-1211>
- Viola J. R., Leijonmarck H., Simonson O. E., Oprea I. I., Frithiof R., Purhonen P., Moreno P. M. D., Lundin K. E., Strömberg R., Smith C. I. E. 2009. Fatty acid-spermine conjugates as DNA carriers for nonviral in vivo gene delivery. *Gene Therapy*, 16, 12: 1429–1440, <https://doi.org/10.1038/gt.2009.108>
- Viskupicova J., Danihelova M., Ondrejovič M., Liptaj T., Sturdik E. 2010. Lipophilic rutin derivatives for antioxidant protection of oil-based foods. *Food Chemistry - FOOD CHEM*, 123: 45–50, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.125>
- Wanasundara U. N., Shahidi F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63, 3: 335–342, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00025-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00025-9)
- Watanabe Y. 2015. Antioxidative Properties of Acyl Ascorbates on Lipid Oxidation in Bulk, Disperse and Microcapsule Systems. *Food Science and Technology Research*, 21, 5: 639–647, <https://doi.org/10.3136/fstr.21.639>
- Wojtasik W., Kulma A., Namysł K., Preisner M., Szopa J. 2015. Polyamine metabolism in flax in response to treatment with pathogenic and non-pathogenic Fusarium strains. *Frontiers in Plant Science*, 6: 291, <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00291>
- Xu X., Liu A., Hu S., Ares I., Martínez-Larrañaga M.-R., Wang X., Martínez M., Anadón A., Martínez M.-A. 2021. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353: 129488, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
- Yalcin S., Schreiner M. 2018. Stabilities of tocopherols and phenolic compounds in virgin olive oil during thermal oxidation. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 1: 244–251, <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2929-5>
- Zeb A., Murkovic M. 2013. Pro-Oxidant Effects of β -Carotene During Thermal Oxidation of Edible Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 6: 881–889, <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2221-4>
- Zheng L., Lin L., Su G., Zhao Q., Zhao M. 2015. Pitfalls of using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay to assess the radical scavenging activity of peptides: Its susceptibility to interference and low reactivity towards peptides. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 76, Pt 3: 359–365, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.045>
- Zheng L., Zhao Y., Dong H., Su G., Zhao M. 2016. Structure–activity relationship of antioxidant dipeptides: Dominant role of Tyr, Trp, Cys and Met residues. *Journal of Functional Foods*, 21: 485–496, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.003>

PREHRANSKA OBOGATITEV GRAHOVE MOKE Z MLEČNOKISLINSKO FERMENTACIJO

Tina ŠAULA¹, Blaž CIGIĆ², Polona JAMNIK³, Irena KRALJ CIGIĆ⁴, Nataša POKLAR ULRIH⁵,
Tomaž POŽRL⁶ in Gregor MAROLT⁷

Povzetek: Povpraševanje po beljakovinsko bogatih živilih v zadnjem času narašča, pri čemer so stročnice zaradi visoke hranilne vrednosti pogosto uporabljena surovina. Poleg prehransko zaželenih vsebujejo tudi manj zaželeni antinutritivni snovi, kot je fitinska kislina, ki zmanjšajo biološko dostopnost nekaterih hranil. Eden od pristopov za njeno zmanjšanje je mlečnokislinska fermentacija, med katero se te snovi razgradijo, poleg tega pa se tvorijo tudi bioaktivne spojine, npr. gama-aminobutanojska kislina (GABA). V raziskavi smo fermentirali grahovo moko, spontano in vodeno z dodatkom mlečnokislinske bakterije *Lactiplantibacillus plantarum*. Postopka sta se v glavnem razlikovala v stopnji hidrolize beljakovin, vsebnosti mlečne kisline, biogenih aminov, GABA in fitinske kisline. Te spremembe so bile odvisne od vrste fermentacije, trajanja in sestave moke. Inokulirana fermentacija je izkazala več prehranskih koristi, kot sta kopičenje GABA in razgradnja fitinske kisline, medtem ko je spontana fermentacija pokazala nizko ponovljivost, akumulacijo nezaželenih biogenih aminov in čezmerno hidrolizo beljakovin. Naši rezultati potrjujejo prednost uporabe starter kultur za izboljšanje prehranske vrednosti in tudi varnosti končnih izdelkov.

Ključne besede: stročnice, grahova moka, mlečnokislinska fermentacija, stopnja proteolize, biogeni amini, fitinska kislina

NUTRITIONAL ENRICHMENT OF PEA FLOUR THROUGH LACTIC ACID FERMENTATION

Abstract: In recent years, the demand for protein-rich foods has risen steadily, with legumes becoming a popular ingredient due to their high nutritional value. In addition to their beneficial nutrients, legumes also contain certain antinutritional compounds, such as phytic acid, which can reduce the bioavailability of essential minerals. A promising strategy to mitigate these effects is lactic acid fermentation, which not only helps break down such compounds but also promotes the formation of bioactive substances such as gamma-aminobutyric acid (GABA). In our study, we fermented pea flour using two approaches: by spontaneous fermentation and by inoculated fermentation using the lactic acid bacterium *Lactiplantibacillus plantarum*. The two methods differed significantly in terms of protein hydrolysis, the content of lactic acid, biogenic amines, GABA and phytic acid. These changes were influenced by the type of fermentation, its duration and the composition of the flour. Inoculated fermentation provided several nutritional benefits, particularly GABA accumulation and phytic acid reduction while spontaneous fermentation showed reduced repeatability, accumulation of unwanted biogenic amines, and excessive protein degradation. Our results underline the benefits of using starter cultures in order to improve the nutritional value and safety of fermented food products.

Keywords: legumes, pea flour, lactic acid fermentation, proteolysis rate, biogenic amines, phytic acid

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

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

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Večna pot 113, Ljubljana, e-mail: irena.kralj-cigic@fkkt.uni-lj.si

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

⁶ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tomaz.pozrl@bf.uni-lj.si

⁷ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Večna pot 113, Ljubljana, e-mail: gregor.marolt@fkkt.uni-lj.si

1 UVOD

V zadnjih letih smo priča pomembnim spremembam prehranskih navad, pri čemer se povečuje delež živil rastlinskega izvora, zlasti kot vir beljakovin (Craig in sod., 2023; McClements in Grossmann, 2021). K temu prispevajo tako okoljska ozaveščenost kot tudi zahteve potrošnikov (Aschemann-Witzel in sod., 2020), saj je živinoreja povezana z večjim ogljičnim odtisom ter večjo porabo energije in naravnih virov (Reisch in sod., 2013). Izdelke živalskega izvora vse pogosteje nadomeščajo rastlinske alternative, pri čemer ostaja ključen izziv ohranjanje njihovih senzoričnih, tehnoloških in prehranskih lastnosti (Tachie in sod., 2023).

Med rastlinskimi viri beljakovin izstopajo stročnice, zlasti soja in volčji bob z do 40 % beljakovin (Tharanathan in Mahadevamma, 2003), medtem ko jih večina ostalih, vključno z grahom, vsebuje okoli 20 %. Grahova moka se pogosto uporablja v proizvodnji alternativ mlečnim in mesnim izdelkom (Shen in sod., 2022), saj ima visok delež beljakovin in nizek alergeni potencial (Boukid in sod., 2021; Rogers in sod., 2024). Trg grahovitih beljakovin se tako hitro širi (Rogers in sod., 2024).

Suha frakcionacija v mlinu, ki temelji na ločevanju delcev v toku zraka glede na njihove aerodinamične lastnosti, omogoča pridobivanje frakcij moke z različno vsebnostjo beljakovin (Fernando, 2021). Ta pristop je posebej učinkovit pri grahu, saj ima v primerjavi z drugimi stročnicami večja škrobna zrna, ki se zato učinkoviteje ločijo od beljakovinskih delcev (De Angelis in sod., 2021; Fernando, 2021). Višjo stopnjo obogatitve z beljakovinami je sicer mogoče doseči z mokro frakcionacijo, vendar je ta postopek ekonomsko manj upravičen (Gultekin Subasi in sod., 2024).

Poleg beljakovin grah vsebuje tudi pomembne minerale (Iqbal in sod., 2006) ter poliamina spermin (SPM) in spermidin (SPD), ki ugodno vplivata na dolgoživost (Kiechl in sod., 2018). Po drugi strani pa grah vsebuje tudi nezaželene biogene amine, kot je histamin (Bartkiene in sod., 2015), ter antinutritivne spojine, kot so zaviralci tripsina in fitinska kislina, ki zmanjšujejo prebavljivost beljakovin in biorazpoložljivost mineralov (Gilani in sod., 2005; Marolt in sod., 2020). Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) je zato potrebe po cinku prilagodila glede na prehranski vnos fitatov (EFSA NDA Panel, 2014; Gibson in sod., 2018).

Toplotna obdelava lahko povzroči denaturacijo nekaterih antinutritivnih dejavnikov, kot so zaviralci tripsina, medtem ko fitinske kisline praviloma ne razgradi (Vaz Patto in sod., 2015). V ta namen so bolj uporabni biološki postopki, kot sta kaljenje in fermentacija z mlečnokislinskimi bakterijami (Kumar in sod., 2010). Fermentacija z *Lactiplantibacillus plantarum* poleg (delne) razgradnje fitatov izboljšuje tudi prebavljivost beljakovin, spodbuja nastanek gama-aminobutanojske kisline (GABA) (Polak in sod., 2021) ter s tvorbo mlečne kisline znižuje pH, kar prispeva k boljši biorazpoložljivosti mineralov (Marolt in sod., 2020; Punia Bangar in sod., 2022). Kljub tem ugodnim učinkom pa lahko med mletjem moke v mlinu pride do mikrobiološke kontaminacije moke z mikroorganizmi, ki tvorijo neželene metabolite, npr. biogene amine (BA) (Berghofer in sod., 2003; Polak in sod., 2021).

Zaradi višje cene beljakovinsko bogatih frakcij postaja smiselno prehransko obogatiti tudi frakcije z nižjim deležem beljakovin. V tej raziskavi smo zato kvantificirali vsebnosti beljakovin, poliaminov, biogenih aminov, mineralov in fitata v treh frakcijah grahove moke: izhodiščni (nefrakcionirani) moki, beljakovinski frakciji in škrobni frakciji. Učinek spontan in inokuliranih fermentacij z *Lactiplantibacillus plantarum* LMG 6907 smo ovrednotili glede na rast mlečnokislinskih bakterij (LAB), spremembo pH, hidrolizo beljakovin, nastanek mlečne kisline ter vsebnosti fitinske kisline, biogenih aminov, poliaminov SPM in SPD ter GABA. Rezultati so bili ovrednoteni glede na tip in trajanje fermentacije ter posamezno mlevsko frakcijo.

2 MATERIAL IN METODE

V raziskavi smo uporabili dve industrijsko pridobljeni frakciji grahove moke – beljakovinsko bogato in škrobno bogato, ter izhodiščno, nefrakcionirano moko, pripravljeno z laboratorijskim mletjem suhih grahovitih polovic (*Pisum sativum*, Mlin Katič, Slovenija). Mlečnokislinske fermentacije so potekale spontano in z inokulacijo

mlečnokislinske bakterije *L. plantarum* LMG 6907. Vzorci so bili fermentirani 24 in 48 h, nato pa analizirani na različne parametre.

Rast mlečnokislinskih bakterij smo spremljali z metodo štetja kolonij na trdnem gojišču. Za identifikacijo bakterijskih združb v spontanah fermentacijah smo izolirali celokupno metagenomsko DNA z uporabo kita DNEasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN) in jo poslali na sekvenciranje (16S V3–V4) ter bioinformatiko analizo v Novogene GmbH (Nemčija). Vrednost pH smo merili z vbočnim pH-metrom (Testo 206), vsebnost L- in D-mlečne kisline pa določali s komercialno dostopnim kitom Megazyme L-/D-Lactic acid (Neogen). Proteolizo smo ovrednotili preko spektrofotometričnega določanja koncentracije prostih aminoskupin, preko katere smo v nadaljevanju izračunali tudi stopnjo hidrolize beljakovin. Biogene amine, GABA ter poliamina SPD in SPM smo analizirali s HPLC po ekstrakciji in derivatizaciji (danzilklorid) ob dodatku internega standarda 1,7-diaminoheptana. Vsebnosti mineralov so bile izmerjene z atomsko absorpcijsko spektroskopijo, fitinsko kislino (v nadaljevanju uporabljamo poimenovanje fitat - njeno ionizirano obliko) pa z ionsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPIC). Statistična analiza je temeljila na Kruskal-Wallisovem testu ($p < 0,05$), izvedenem v programu R (verzija 4.4.1).

3 REZULTATI

3.1 HRANILNA SESTAVA MLEVSKIH FRAKCIJ GRAHOVE MOKE

Suha frakcionacija izhodiščne grahove moke, ki je vsebovala 18,3 % beljakovin, je omogočila pridobitev dveh ločenih frakcij - beljakovinsko bogate z 43,7 % beljakovin in škrobno bogate z 12,3 % beljakovin (preglednica 1). Mineralna sestava je v večini primerov sledila vsebnosti beljakovin. Izjema je bilo železo, kar je skladno z ugotovitvami predhodnih raziskav frakcioniranih mok stročnic (De Angelis in sod., 2021). V beljakovinsko bogati frakciji smo zaznali skoraj 2-krat višje koncentracije cinka, bakra in mangana kot v izhodiščni moki, medtem ko je bila vsebnost železa višja le za 29 %. V škrobni frakciji so bile vse določene vsebnosti mineralov nižje v primerjavi s tistimi v izhodiščni moki. Fitat, ki omejuje biološko razpoložljivost mineralov, je bil najvišji v beljakovinsko bogati (20,4 mg/g) in najnižji v škrobno bogati moki (4,5 mg/g), kar sovпада z dejstvom, da se v grahu nahaja v bližini beljakovinskih telesc in se tako frakcionira skupaj z beljakovinami (Fredrikson in sod., 2001). Glede na količino fitata pa je železo v škrobni frakciji, kljub nižji absolutni vsebnosti, razmeroma bolj dostopno - 8,2 $\mu\text{g Fe/mg}$ fitata v primerjavi s 3,0 $\mu\text{g/mg}$ v beljakovinsko bogati moki.

Preglednica 1: Vsebnost beljakovin, mineralov, poliaminov in fitata v obravnavanih mlevskih frakcijah grahove moke

		beljakovinska frakcija izhodiščna moka škrobna frakcija		
Beljakovine (% suhe snovi)		43,7 $\pm$ 0,2 ^a	18,3 $\pm$ 0,1 ^b	12,3 $\pm$ 0,1 ^c
Poliamini ($\mu\text{g/g}$)	spermidin	290 $\pm$ 20 ^a	126 $\pm$ 6 ^b	76 $\pm$ 4 ^c
	spermin	109 $\pm$ 6 ^a	37 $\pm$ 1 ^b	23 $\pm$ 1 ^c
Makrominerali (mg/g)	kalcij	0,230 $\pm$ 0,003 ^a	0,113 $\pm$ 0,002 ^b	0,057 $\pm$ 0,001 ^c
	magnezij	2,59 $\pm$ 0,04 ^a	1,18 $\pm$ 0,02 ^b	0,72 $\pm$ 0,01 ^c
	kalij	20,9 $\pm$ 0,1 ^a	11,4 $\pm$ 0,1 ^b	8,37 $\pm$ 0,03 ^c
	natrij	0,035 $\pm$ 0,004 ^a	0,018 $\pm$ 0,001 ^b	0,009 $\pm$ 0,002 ^c
Mikrominerali ($\mu\text{g/g}$)	železo	62 $\pm$ 1 ^a	48 $\pm$ 1 ^b	37 $\pm$ 1 ^c
	baker	16 $\pm$ 1 ^a	8 $\pm$ 1 ^b	3 $\pm$ 1 ^c
	cink	80 $\pm$ 1 ^a	40 $\pm$ 1 ^b	22 $\pm$ 1 ^c
Fosfor in fitat (mg/g)	ortofosfat	9,2 $\pm$ 0,1 ^a	4,35 $\pm$ 0,05 ^b	1,86 $\pm$ 0,07 ^c
	fitat	20,4 $\pm$ 0,3 ^a	11,9 $\pm$ 1,1 ^b	4,5 $\pm$ 0,4 ^c
	% fosf. kot fitat	63 %	77 %	68 %

Vsebnosti poliaminov SPD in SPM so v izhodiščni grahovi moki znašale 126 $\mu\text{g/g}$ in 37 $\mu\text{g/g}$ (preglednica 1), kar ustreza literaturnim podatkom (Kalač in sod., 2002; Qiao in sod., 2024). V beljakovinsko bogati frakciji sta ti vrednosti narasli na 290 $\mu\text{g/g}$ (SPD) in 109 $\mu\text{g/g}$ (SPM), kar predstavlja 4-krat višjo vsebnost v primerjavi s tisto v škrobno bogati frakciji. Tako izrazitih razlik v vsebnosti bioaktivnih poliaminov med frakcijami stročnic do sedaj še niso poročali. Glede na visoko vsebnost SPD bi lahko beljakovinsko frakcijo potencialno obravnavali kot

»superživilo« (Gupta in Mishra, 2020). Po podatkih Steichen in sod. (2023) povprečna vsebnost SPD v prehranskih dopolnilih znaša približno 2000 µg/g, kar je le 7-krat več kot v obravnavani beljakovinski frakciji moke. Glede na te rezultate bi lahko povprečni dnevni vnos SPD po EU in ZDA smernicah zagotovili že s prehranskim vnosom 45 g (EU) oz. 28 g (ZDA) beljakovinsko bogate frakcije moke (Muñoz-Esparza in sod., 2019).

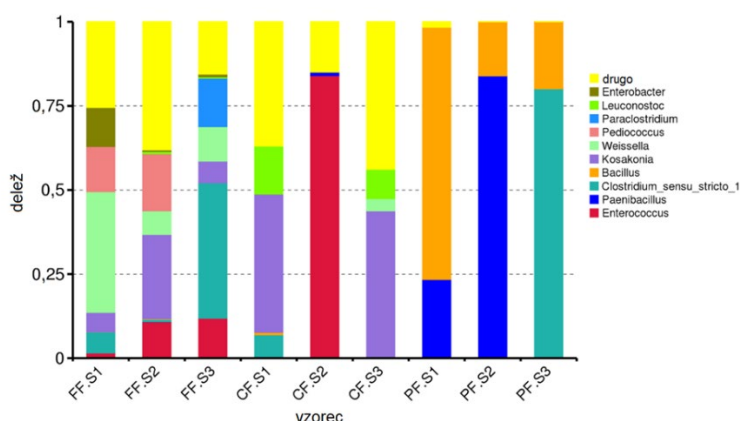
3.3 MIKROBNA DINAMIKA IN TVORBA MLEČNE KISLINE TER NJENA IZOMERNA SESTAVA

Vse tri frakcije grahove moke – izhodiščno, beljakovinsko in škrobno bogato smo fermentirali spontano in vodeno z dodatkom *L. plantarum*. Že v prvih 24 urah je bila pri vseh inokuliranih vzorcih zaznana pospešena mikroba rast, najizraziteje v beljakovinsko bogati frakciji (preglednica 2). V istem časovnem obdobju so spontane fermentacije potekale počasneje in z večjo stopnjo variabilnosti.

Preglednica 2: Število mlečnokislinskih bakterij log(CFU/g) in pH vrednost suspenzije moke pred fermentacijo ter po 24- in 48-urni fermentaciji beljakovinsko bogate frakcije, škrobno bogate frakcije in izhodiščne frakcije.

Moka	Tip in čas fermentacije (mlečnokislinske bakterije log (CFU/g)) / pH	0 h	24 h	48 h
beljakovinska frakcija	spontana	0,00 / 6,42	6,64 / 6,13	9,12 / 5,42
	kultura	6,91 / 6,42	9,62 / 4,18	8,89 / 4,07
izhodiščna moka	spontana	0,00 / 6,41	0,00 / 5,93	0,00 / 5,48
	kultura	6,87 / 6,41	9,28 / 3,98	9,08 / 3,88
škrobna frakcija	spontana	0,00 / 6,33	7,52 / 5,67	8,67 / 4,77
	kultura	6,87 / 6,33	8,84 / 4,01	8,80 / 3,85

Za oceno mikrobne raznolikosti spontano fermentiranih mok smo v vzorcih 48-urnih fermentacij izvedli metagenomsko analizo (slika 1). Rezultati so pokazali nizko ponovljivost spontane fermentacije ter visoko variabilnost mikrobne sestave med posameznimi ponovitvami eksperimenta. Večjo ponovljivost smo opazili v primeru beljakovinske in škrobno bogate frakcije, medtem ko je bila mikrobna sestava v izhodiščni moki izrazito drugačna. Ta razlika je verjetno posledica kontaminacije med postopkom mletja (Berghofer in sod., 2003), saj smo izhodiščno moko pripravili z mletjem v laboratoriju, medtem ko sta bili beljakovinska in škrobna frakcija pridobljeni v mlinu.



Slika 1: Taksonomska sestava mikrobnih skupnosti v beljakovinsko bogati frakciji (FF), škrobno bogati frakciji (CF) in izhodiščni grahovi moki (PF), določena z metagenomsko analizo 16S rDNA po 48 urah spontane fermentacije (S) v prvi (1), drugi (2) in tretji (3) biološki ponovitvi eksperimenta.

V inokuliranih fermentacijah se je pH v vseh frakcijah že po 24 urah znižal z začetnih 6,4 na približno 4,0-4,2 (preglednica 2). V nasprotju s tem je bil v spontanah fermentacijah padec pH počasnejši in manj izrazit. Najizrazitejše zakisanje smo opazili v škrobno bogati frakciji, kjer je zaradi nižje vsebnosti fitata (4,5 mg/g) puferska kapaciteta matriksa nižja in je zato prišlo do večjega in hitrejšega padca pH. Nasprotno pa sta

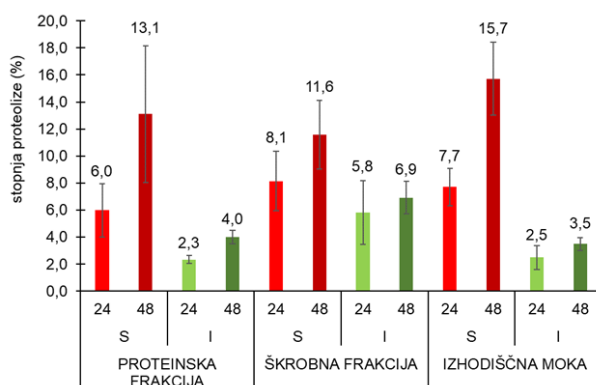
beljakovinsko bogata in izhodiščna frakcija moke vsebovali višje koncentracije fitata (20,4 in 11,9 mg/g), kar je zmanjšalo stopnjo zakisanja in je skladno z ugotovitvami Michałowska-Kaczmarczyk in sod., (2015).

Tvorba mlečne kisline je bila najvišja v inokuliranih mokah (15,5-30,3 mg/g), še posebej v beljakovinski frakciji, kjer je po 48 urah dosegla vsebnost 30,3 mg/g. V spontanah fermentacijah, zlasti v primeru izhodiščne moke, so bile koncentracije mlečne kisline precej nižje (0,5-6,8 mg/g), kar je smiselno glede na to, da v tej frakciji nismo zaznali prisotnosti mlečnokislinskih bakterij (Abedi & Hashemi, 2020). Na podlagi rezultatov domnevamo, da so imeli mikroorganizmi avtohtone mikrobiote mok (slika 1) omejeno sposobnost tvorbe mlečne kisline, kar bi lahko bil vzrok za nižje koncentracije mlečne kisline in manjši padec pH v spontanah fermentacijah.

Analiza izomerne sestave mlečne kisline je pokazala, da je v prvih 24 urah inokuliranih fermentacij prevladovala D-mlečna kislina, medtem ko je v kasnejših fazah večji delež predstavljala L-mlečna kislina. Takšna dinamika sovpadla s fazo eksponentne rasti *L. plantarum* v prvih 24 urah, ko D-mlečna kislina igra ključno vlogo v biosintezi celičnih membran (Goffin in sod., 2005). Ker se D-mlečna kislina presnavlja počasneje, je z vidika prehranske varnosti in presnove manj zaželeno (Bianchetti in sod., 2018). V spontanah fermentacijah smo zaznali tudi izrazite razlike med posameznimi ponovitvami eksperimenta – v eni izmed serij spontano fermentirane škrobne frakcije je bila prisotna skoraj izključno D-mlečna kislina, v drugi pa le L-mlečna kislina. Takšna neskladnost kaže na nizko ponovljivost spontanah fermentacij.

3.5 HIDROLIZA BELJAKOVIN MED FERMENTACIJO

Stopnja hidrolize beljakovin (proteolize) se je razlikovala glede na vrsto in trajanje fermentacije ter tip mlevske frakcije moke (slika 2). Spontane fermentacije so povzročile izrazitejšo razgradnjo beljakovin v primerjavi z inokuliranimi, kar se je po 48 urah odražalo v višjih koncentracijah prostih aminoskupin in obsežnejši proteolizi v vseh treh frakcijah. Najvišjo vsebnost prostih aminoskupin smo določili v beljakovinsko bogati frakciji (446 $\mu\text{mol/g}$), medtem ko se je stopnja proteolize v teh vzorcih gibala med 11,6 % in 15,7 %. Te vrednosti presegajo prag senzorične grenkobe, določen za sojine hidrolizate (Seo in sod., 2008), kar bi lahko negativno vplivalo na senzorično sprejemljivost fermentiranih mlevskih frakcij. V inokuliranih fermentacijah je bila stopnja proteolize bistveno nižja (3,5-6,9 %), kar odraža bolj nadzorovano proteolitično aktivnost izbranega seva *L. plantarum*. Obsežnejša proteoliza v spontanah fermentacijah je najverjetneje rezultat sočasnega delovanja heterogene avtohtone mikrobiote in endogenih encimov, prisotnih v mlevskih frakcijah. Ti encimi ostajajo aktivni pri pH vrednostih med 4,8 in 5,5 (Diana in sod., 2014), kar so tudi bile dejanske izmerjene vrednosti v spontanah fermentacijah. Glede na literaturo je lahko proteolitična aktivnost encimov, prisotnih v moki, celo višja od aktivnosti mikrobnih proteaz (David Troncoso in sod., 2022), kar dodatno pojasnjuje obsežnejšo razgradnjo beljakovin v spontano fermentiranih vzorcih.

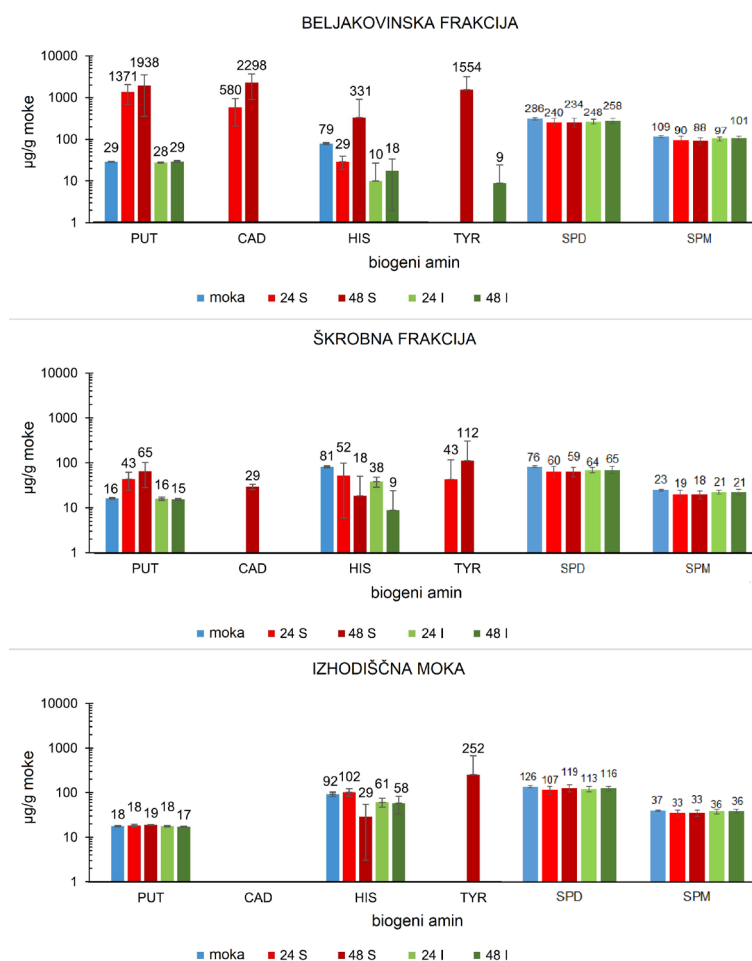


Slika 2: Stopnja hidrolize beljakovin (proteolize) po 24- in 48-urni spontani (S) in inokulirani (I) fermentaciji v beljakovinski frakciji, škrobni frakciji in izhodiščni grahovi moki.

3.5 BIOGENI AMINI IN POLIAMINI

Vsebnost biogenih aminov (slika 3) v fermentiranih vzorcih je močno variirala glede na tip in trajanje fermentacije ter mlevsko frakcijo moka. V vseh treh frakcijah so spontane fermentacije povzročile bistveno večjo akumulacijo biogenih aminov kot inokulirane. Najvišje vrednosti smo izmerili v spontano fermentirani beljakovinsko bogati frakciji po 48 urah, kjer je skupna vsebnost biogenih aminov (TRP, PEA, TYR, PUT, CAD) presegla 6600 $\mu\text{g/g}$, kar ustreza več kot 0,5 % mase moka in sovpada z rezultati Polak in sod., (2021). Nasprotno pa je bila v inokuliranih fermentacijah te iste frakcije skupna vsebnost BA več kot 100-krat nižja (56 $\mu\text{g/g}$). Histamin je med analiziranimi biogenimi amini izstopal zaradi potencialno škodljivih učinkov na zdravje ob zaužitju višjih koncentracij. V vseh inokuliranih vzorcih je bila njegova vsebnost nižja kot v nefermentiranih mokah, kar nakazuje na ugoden vpliv histamin-oksidade; encima, ki ga tvori *L. plantarum*, in ki razgrajuje histamin (Kung in sod., 2017; Leuschner in sod., 1998). Nasprotno pa v spontanah fermentacijah tega učinka nismo dosledno zaznali, kar dodatno potrjuje njihovo nepredvidljivo naravo.

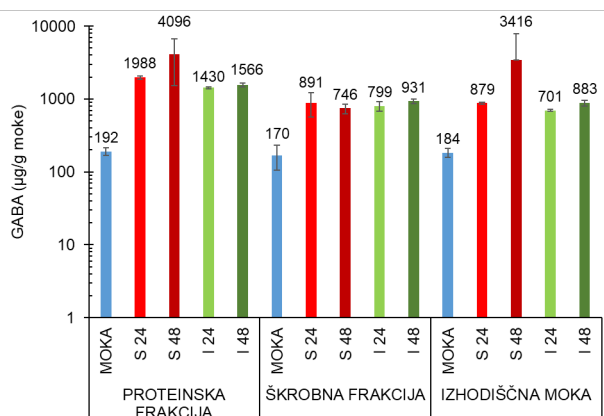
Poliamina spermidin in spermin (slika 3), znana po svojih bioaktivnih lastnostih in vlogi v številnih celičnih procesih, sta bila v najvišjih koncentracijah prisotna v beljakovinsko bogati frakciji. Vsebnosti sta med fermentacijo ostali stabilni, saj ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti v primerjavi z nefermentirano moko. Najvišje izmerjene koncentracije v beljakovinski frakciji so znašale 290 $\mu\text{g/g}$ za spermidin in 109 $\mu\text{g/g}$ za spermin, kar močno presega vrednosti določene v škrobni frakciji in dodatno potrjuje visoko prehransko vrednost te frakcije (Kalač in Krausová, 2005; Qiao in sod., 2024).



Slika 3: Vsebnosti biogenih aminov in poliaminov: putrescin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HIS), tiramin (TYR), spermidin (SPD) in spermin (SPM) v beljakovinsko bogati frakciji, škrobno bogati frakciji in izhodiščni grahovi moki ter pripadajočih kislih testih po 24- in 48-urni spontani (S) in inokulirani (I) fermentaciji z *L. plantarum* LMG 6907, prikazano na logaritemski lestvici.

3.6 VSEBNOST GABA IN FITATA V FERMENTIRANIH GRAHOVIH MOKAH

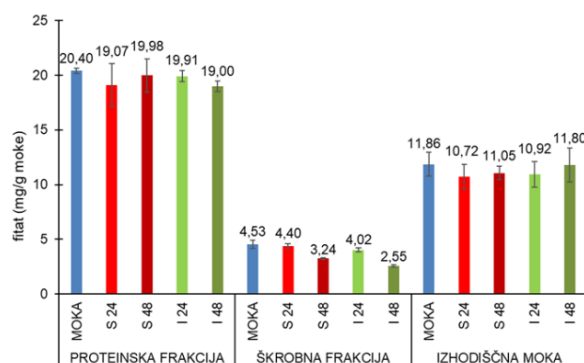
Vsebnost GABA (slika 4) se je s fermentacijo zvišala v vseh treh frakcijah moke: od 4-kratnega povečanja v izhodiščni moki (po 24 urah, inokulirano) do kar 22-kratnega povečanja v beljakovinsko bogati frakciji (po 48 urah, spontano). Izmerjene koncentracije so primerljive z vrednostmi, poročanimi za druge fermentirane stročnice in zelenjavo (Iorizzo in sod., 2024; Polak in sod., 2021). Kolikor nam je znano, v obstoječi literaturi doslej še ni bilo poročanja o akumulaciji GABA v fermentirani grahovi moki.



Slika 4: Vsebnost GABA (µg/g moka) v beljakovinsko bogati frakciji, škrobno bogati frakciji in izhodiščni grahovi moki ter po 24- in 48-urni spontani (S) in inokulirani (I) fermentaciji z *L. plantarum* LMG 6907.

V vseh primerih je bila vsebnost GABA višja v proteinski kot v škrobni frakciji, kar je povezano z večjo tvorbo prostih aminoskupin, zlasti glutamata – glavnega prekursorja GABA (Pannerchelvan in sod., 2023). K večji tvorbi GABA je verjetno prispeval tudi višji pH v spontanah fermentacijah proteinske frakcije (pH 6,13), saj encim glutamat dekarboksilaza optimalno deluje pri pH med 5 in 6 (Lamberts in sod., 2012). V inokuliranih fermentacijah je bil porast GABA bolj ponovljiv kot v spontanah, kar je s prehranskega vidika ugodno, saj je uživanje GABA povezano z nevroprotektivnimi, antihipertenzivnimi in pomirjevalnimi učinki (Lee in sod., 2023).

Vsebnost fitata (slika 5) v izhodiščni moki je bila primerljiva z vrednostmi, poročanimi za različne sorte graha (Auer in sod., 2024; Linsberger-Martin in sod., 2013). Beljakovinska frakcija je vsebovala približno 5-krat več fitata kot škrobna, kar je skladno z ugotovitvami drugih študij, ki so karakterizirale mlevske frakcije grahove moke (De Angelis in sod., 2021). Po 48 urah fermentacije se je vsebnost fitata zmanjšala v inokulirani beljakovinski (- 7 %) in škrobni frakciji (- 42 %) ter v spontano fermentirani škrobni frakciji (- 29 %), medtem ko v izhodiščni grahovi moki ni prišlo do statistično značilnega znižanja vsebnosti med fermentacijo. Zmanjšanje vsebnosti fitata je v absolutnih vrednostih znašalo med 1,3 in 1,9 mg/g, pri čemer je bil relativni učinek najizrazitejši v škrobni frakciji, saj ga je ta že pred fermentacijo vsebovala najmanj. Podobno zmanjšanje vsebnosti fitata (za 15 %) je bilo pri fermentaciji nefrakcionirane grahove moke z *L. plantarum* predhodno že ugotovljeno v drugih raziskavah (Skalickova in sod., 2022).



Slika 5: Vsebnost fitata (mg/g moka) v beljakovinsko bogati frakciji, škrobno bogati frakciji in izhodiščni grahovi moki ter po 24- in 48-urni spontani (S) in inokulirani (I) fermentaciji z *L. plantarum* LMG 6907.

Poleg fitata biološko dostopnost mineralov zmanjšujejo tudi tanini in drugi polifenoli (Singh in sod., 2017; Singh in Prasad, 2023), ki lahko vplivajo tudi na okus in prebavljivost beljakovin. Najvišje koncentracije taninov smo izmerili v beljakovinsko bogati frakciji (1082 mg katehinskih ekvivalentov na kg), najnižje pa v škrobni frakciji (313 mg katehinskih ekvivalentov na kg). Izhodiščna moka je vsebovala 454 mg katehinskih ekvivalentov na kg, kar je skladno z vrednostmi, ki veljajo za rumeni grah (Xu in sod., 2007). Kljub temu je molska koncentracija taninov in polifenolov bistveno nižja kot pri fitatu, zato je njihov vpliv na biorazpoložljivost mineralov manj izrazit. Zmanjšanje vsebnosti taninov z encimsko aktivnostjo med fermentacijo je sicer že bilo potrjeno v predhodnih študijah (Curiel in sod., 2015).

Na podlagi mineralne sestave (preglednica 1) je škrobna frakcija že pred fermentacijo imela ugodnejše razmerje fitat/železo (10,3) v primerjavi z beljakovinsko frakcijo (27,8). Po inokulirani fermentaciji se je razmerje še dodatno izboljšalo - na 6,0 v škrobni in 25,9 v beljakovinski frakciji, kar pomeni 4,3-kratno razliko v prid škrobne frakcije. Nižji pH fermentirane škrobne frakcije (3,85) v primerjavi z beljakovinsko (4,07) omogoča večjo protonacijo fitata, kar oslabi njegovo vezavo s kovinskimi ioni (Marolt in sod., 2015) in tako poveča biološko dostopnost železa in drugih mineralov v škrobni frakciji po fermentaciji.

4 ZAKLJUČEK

Z namenom izboljšanja prehranske vrednosti treh različnih mlevskih frakcij grahove moka (izhodiščne moka, beljakovinske frakcije in škrobne frakcije) smo izvedli spontane in inokulirane fermentacije z mlečnokislinsko bakterijo *Lactiplantibacillus plantarum* LMG 6907. Rezultati so pokazali, da je inokulirana fermentacija učinkovito znižala vsebnost fitata, zlasti v škrobno bogati frakciji, z že sicer nizko izhodiščno koncentracijo fitata, kar je dodatno prispevalo k boljši biorazpoložljivosti železa v tej moki in predstavlja pomembno prehransko prednost.

Poleg tega je bila inokulacija z *L. plantarum* povezana s povečanjem koncentracije gama-aminobutanojske kisline (GABA) in znižanjem histamina, česar s spontano fermentacijo nismo dosegli v zadostni ponovljivosti. Vsebnosti bioaktivnih poliaminov spermina in spermidina so med fermentacijo ostale nespremenjene. Spontana fermentacija je sicer povzročila izrazitejšo proteolizo, vendar jo je spremljala tudi prekomerna tvorba biogenih aminov in visoka variabilnost rezultatov, kar omejuje njeno uporabnost z vidika prehranske varnosti in tehnološke zanesljivosti.

Rezultati te raziskave so pokazali, da je fermentacija z *L. plantarum* ustrezna strategija za izboljšanje prehranske vrednosti grahove moka, saj omogoča boljšo ponovljivost rezultatov in s tem nadzor nad potekom fermentacijskega procesa ter višjo stopnjo varnosti in prehranske funkcionalnosti končnega izdelka.

POSVETILO

Znanstveno objavo posvečamo v spomin naši dragi sodelavki, prijateljici in soavtorici prof. dr. Poloni Jamnik, ki nas je pred kratkim, po neizprosni bitki z boleznijo, žal zapustila.

5 VIRI

- Abedi, E., Hashemi, S. M. B. 2020. Lactic acid production - producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10), e04974. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>
- Aschemann-Witzel, J., Gantriis, R. F., Fraga, P., Perez-Cueto, F. J. A. 2020. Plant-based food and protein trend from a business perspective: markets, consumers, and the challenges and opportunities in the future. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1793730>
- Auer, J., Alminger, M., Marinea, M., Johansson, M., Zamaratskaia, G., Högberg, A., Langton, M. 2024. Assessing the digestibility and estimated bioavailability/ bioaccessibility of plant-based proteins and minerals from soy, pea, and faba bean ingredients. *Lwt- Food Science and Technology*, 197, 115893. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115893>
- Bartkiene, E., Krungleviciute, V., Juodeikiene, G., Vidmantienė, D., Maknickienė, Z. 2015. Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1336–1342. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6827>
- Berghofer, L. K., Hocking, A. D., Miskelly, D., Jansson, E. 2003. Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1–2), 137–149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00507-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00507-X)
- Bianchetti, D. G. A. M., Amelio, G. S., Lava, S. A. G., Bianchetti, M. G., Simonetti, G. D., Agostoni, C., Fossali, E. F., Milani, G. P. 2018. D-lactic acidosis in humans: systematic literature review. *Pediatric Nephrology*, 33(4), 673–681. <https://doi.org/10.1007/s00467-017-3844-8>
- Boukid, F., Rosell, C. M., Castellari, M. 2021. Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.040>
- Craig, W. J., Messina, V., Rowland, I., Frankowska, A., Bradbury, J., Smetana, S., Medici, E. 2023. Plant-Based Dairy Alternatives Contribute to a Healthy and Sustainable Diet. *Nutrients*, 15(15), 1–21. <https://doi.org/10.3390/nu15153393>
- Curiel, J. A., Coda, R., Centomani, I., Summo, C., Gobetti, M., & Rizello Giuseppe, C. 2015. Exploitation of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: The potential of sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.032>
- David Troncoso, F., Alberto Sánchez, D., Luján Ferreira, M. 2022. Production of Plant Proteases and New Biotechnological Applications: An Updated Review. *ChemistryOpen*, 11(3), e202200017. <https://doi.org/10.1002/open.202200017>
- De Angelis, D., Pasqualone, A., Allegretta, I., Porfido, C., Terzano, R., Squeo, G., Summo, C. 2021. Antinutritional factors, mineral composition and functional properties of dry fractionated flours as influenced by the type of pulse. *Heliyon*, 7(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06177>
- Diana, M., Rafeas, M., Quílez, J. 2014. Free amino acids, acrylamide and biogenic amines in gamma-aminobutyric acid enriched sourdough and commercial breads. *Journal of Cereal Science*, 60(3), 639–644. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.06.009>
- EFSA NDA Panel. 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal*, 12(10). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3844>
- Fernando, S. 2021. Production of protein-rich pulse ingredients through dry fractionation: A review. *Lwt- Food Science and Technology*, 141, 110961. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110961>
- Fredrikson, M., Alminger, M. L., Carlsson, N. G., Sandberg, A. S. 2001. Phytate content and phytate degradation by endogenous phytase in pea (*Pisum sativum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(12), 1139–1144. <https://doi.org/10.1002/jsfa.918>
- Gibson, R. S., Raboy, V., King, J. C. 2018. Implications of phytate in plant-based foods for iron and zinc bioavailability, setting dietary requirements, and formulating programs and policies. *Nutrition Reviews*, 76(11), 793–804. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy028>
- Gilani, G. S., Cockell, K. A., Sepehr, E. 2005. Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *Journal of AOAC International*, 88(3), 967–987. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.967>
- Goffin, P., Deghorain, M., Mainardi, J. L., Tytgat, I., Champomier-Vergès, M. C., Kleerebezem, M., Hols, P. 2005. Lactate racemization as a rescue pathway for supplying D-lactate to the cell wall biosynthesis machinery in *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology*, 187(19), 6750–6761. <https://doi.org/10.1128/JB.187.19.6750-6761.2005>

- Gultekin Subasi, B., Forghani, B., Abdollahi, M. 2024. Exploring Swedish pea varieties suitable for protein isolation, focusing on antinutrients and off-flavors. *Journal of Food Composition and Analysis*, 128, 105988. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.105988>
- Gupta, E., Mishra, P. 2020. Functional Food with Some Health Benefits, So Called Superfood: A Review. *Current Nutrition & Food Science*, 17(2), 144–166. <https://doi.org/10.2174/1573401316999200717171048>
- Iorizzo, M., Paventi, G., Martino, C. Di. 2024. Biosynthesis of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) by *Lactiplantibacillus plantarum* in Fermented Food Production. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(1), 200–220. <https://doi.org/10.3390/cimb46010015>
- Iqbal, A., Khalil, I. A., Ateeq, N., Sayyar Khan, M. 2006. Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, 97(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.011>
- Kalač, P., Krausová, P. (2005). A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90(1–2), 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.044>
- Kalač, P., Švecova, S., Pelikaovaepartment, T. 2002. Levels of biogenic amines in typical vegetable products. *Food Chemistry*, 77(3), 349–351. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00360-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00360-0)
- Kiechl, S., Pechlaner, R., Willeit, P., Notdurfter, M., Paulweber, B., Willeit, K., Werner, P., Ruckenstein, C., Iglseder, B., Weger, S., Mairhofer, B., Gartner, M., Kedenko, L., Chmelikova, M., Stekovic, S., Stuppner, H., Oberhollenzer, F., Kroemer, G., Mayr, M., ... Willeit, J. 2018. Higher spermidine intake is linked to lower mortality: A prospective population-based study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108(2), 371–380. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy102>
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., Becker, K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120(4), 945–959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.052>
- Kung, H. F., Lee, Y. C., Huang, Y. L., Huang, Y. R., Su, Y. C., Tsai, Y. H. 2017. Degradation of histamine by *Lactobacillus plantarum* isolated from MISO products. *Journal of Food Protection*, 80(10), 1682–1688. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-135>
- Lamberts, L., Joye, I. J., Beliën, T., Delcour, J. A. 2012. Dynamics of γ -aminobutyric acid in wheat flour bread making. *Food Chemistry*, 130(4), 896–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.004>
- Lee, X. Y., Tan, J. S., Cheng, L. H. 2023. Gamma Aminobutyric Acid (GABA) Enrichment in Plant-Based Food–A Mini Review. *Food Reviews International*, 39(8), 5864–5885. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2097257>
- Leuschner, R. G., Heidel, M., Hammes, W. P. 1998. Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 39(1–2), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(97\)00109-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)00109-8)
- Linsberger-Martin, G., Weiglhofer, K., Phan Thi Phuong, T., Berghofer, E. 2013. High hydrostatic pressure influences antinutritional factors and in vitro protein digestibility of split peas and whole white beans. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 331–336. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.008>
- Marolt, G., Gričar, E., Pihlar, B., Kolar, M. 2020. Complex Formation of Phytic Acid With Selected Monovalent and Divalent Metals. *Frontiers in Chemistry*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.582746>
- Marolt, G., Šala, M., Pihlar, B. 2015. Voltammetric Investigation of Iron(III) Interactions with Phytate. *Electrochimica Acta*, 176, 1116–1125. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.06.120>
- McClements, D. J., Grossmann, L. 2021. A brief review of the science behind the design of healthy and sustainable plant-based foods. *npj Science of Food*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00099-y>
- Michałowska-Kaczmarczyk, A. M., Michałowski, T., Asuero, A. G. 2015. Formulation of Dynamic Buffer Capacity for Phytic Acid. *American Journal of Chemistry and Applications*, 2(1), 5–9.
- Muñoz-Esparza, N. C., Latorre-Moratalla, M. L., Comas-Basté, O., Toro-Funes, N., Veciana-Nogués, M. T., Vidal-Carou, M. C. 2019. Polyamines in food. *Frontiers in Nutrition*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00108>
- Pannerchelvan, S., Rios-Solis, L., Faizal Wong, F. W., Zaidan, U. H., Wasoh, H., Mohamed, M. S., Tan, J. S., Mohamad, R., Halim, M. 2023. Strategies for improvement of gamma-aminobutyric acid (GABA) biosynthesis via lactic acid bacteria (LAB) fermentation. *Food and Function*, 14(9), 3929–3948. <https://doi.org/10.1039/d2fo03936b>
- Polak, T., Mejaš, R., Jamnik, P., Cigić, I. K., Ulrih, N. P., Cigić, B. 2021. Accumulation and transformation of biogenic amines and gamma-aminobutyric acid (GABA) in chickpea sourdough. *Foods*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/foods10112840>
- Punia Bangar, S., Suri, S., Trif, M., Ozogul, F. 2022. Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience*, 46, 101615. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615>

- Qiao, J., Cai, W., Wang, K., Haubruge, E., Dong, J., El-Seedi, H. R., Xu, X., Zhang, H. 2024. New Insights into Identification, Distribution, and Health Benefits of Polyamines and Their Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(10), 5089–5106. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c08556>
- Reisch, L., Eberle, U., Lorek, S. 2013. Sustainable food consumption: an overview of contemporary issues and policies. *Sustainability: Science, Practice and Policy*, 9(2), 7–25. <https://doi.org/10.1080/15487733.2013.11908111>
- Rogers, H., Dora, M., Tsolakis, N., Kumar, M. 2024. Plant-based Food Supply Chains: Recognising Market Opportunities and Industry Challenges of Pea Protein. *Applied Food Research*, 4(2), 100440. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100440>
- Seo, W. H., Lee, H. G., Baek, H. H. 2008. Evaluation of bitterness in enzymatic hydrolysates of soy protein isolate by taste dilution analysis. *Journal of Food Science*, 73(1), S41–S46. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00610.x>
- Shen, Y., Hong, S., Li, Y. 2022. Pea protein composition, functionality, modification, and food applications: A review. V *Advances in Food and Nutrition Research* (1. izd., Let. 101). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2022.02.002>
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., Singh, N. 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds : A review. *Food Research International*, 101, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>
- Singh, P., Prasad, S. 2023. A review on iron , zinc and calcium biological significance and factors affecting their absorption and bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*, 123, 105529. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105529>
- Skalickova, S., Ridoskova, A., Slama, P., Skladanka, J., Skarpa, P., Smykalova, I., Horacek, J., Dostalova, R., Horky, P. 2022. Effect of Lactic Fermentation and Cooking on Nutrient and Mineral Digestibility of Peas. *Frontiers in Nutrition*, 9, 838963. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.838963>
- Steichen, P., Gruber, K., Hippe, B., Haslberger, A. 2023. Spermidine content of selected dietary supplements: potential for improvement? *Functional Foods in Health and Disease*, 13(5), 258–267. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v13i5.1102>
- Tachie, C., Nwachukwu, I. D., Aryee, A. N. A. 2023. Trends and innovations in the formulation of plant-based foods. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00129-0>
- Tharanathan, R. N., Mahadevamma, S. 2003. Grain legumes - A boon to human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 14(12), 507–518. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.002>
- Vaz Patto, M. C., Amarowicz, R., Aryee, A. N. A., Boye, J. I., Chung, H. J., Martín-Cabrejas, M. A., Domoney, C. 2015. Achievements and Challenges in Improving the Nutritional Quality of Food Legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1–3), 105–143. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897907>
- Xu, B. J., Yuan, S. H., Chang, S. K. C. 2007. Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes. *Journal of Food Science*, 72(2), S167–S177. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x>

VABLJENO PREDAVANJE

KRUH NAŠ VSAKDANJI – FUNKCIONALNO IN TRAJNOSTNO ŽIVILO PRIHODNOSTIBoris KOVAČ¹, Monika ŠPORIN² in Sonja SMOLE MOŽINA³

Povzetek: Delo obravnava novosti in inovacije na področju pekarstva. Prihodnost kruha oblikujejo prehranske smernice, povezane z znanstvenimi odkritji na področju zdravja, potrošniških navad in ciljev trajnostnega razvoja. Prehranske izboljšave vključujejo razvoj funkcionalnih lastnosti kruha z manjšo energijsko gostoto, večjo vsebnostjo beljakovin, prehranske vlaknine in zaščitnih snovi. Z ustreznim izborom surovin lahko vplivamo na glikemični indeks, kar omogoča počasnejši odziv porasta krvnega sladkorja po obroku. Uporaba surovin z bioaktivnimi spojinami, kot so polifenoli, omogoča izboljšanje zdravja prebavil in obvladovanje endogenih vnetij. Alternativna žita in psevdžita, ki so lahko predhodno fermentirana ali kontrolirano kaljena, predstavljajo pomemben korak v razvoju kruha ter prispevajo k večji prehranski raznolikosti. Poleg tega se pojavljajo številne pobude za ponovno uporabo stranskih proizvodov, ki nastajajo npr. v pivovarstvu ter predelavi sadja in zelenjave. Ta ne le zmanjšuje količino odpadkov, temveč daje dodano vrednost, povečuje npr. vsebnost prehranske vlaknine in bioaktivnih snovi v novem izdelku. Fermentacija se osredotoča na tradicionalne tehnike, kot je fermentacija z nastavki in kislim testom, ki izboljšujejo prebavljivost in okus, zmanjšujejo koncentracijo antinutrientov ter podaljšujejo svežino kruha. Tehnološki napredek priprave kruha vključuje uporabo naprednih metod, kot sta 3D tiskanje in personalizacija kruha, obe omogočata prilagojeno hranilno sestavo izdelkov. Z uporabo umetne inteligence se optimizirajo časi fermentacije, interakcije sestavin in proces peke, kar povečuje kakovost in energetsko učinkovitost. Trajnostne prakse v pekarstvu pomenijo premik k regenerativnim surovinam, ki se osredotočajo na pridelavo žit z minimalnim vplivom na okolje ter usmerjeno rabo energije. Ogljično nevtralnost priprave kruha poskušajo doseči z uvedbo zelenih virov energije, tehnologij vodika in zajemanja CO₂ iz fermentacijskih procesov.

Ključne besede: kruh, trendi, funkcionalnost, trajnostni razvoj pekarstva

OUR DAILY BREAD – FUNCTIONAL AND SUSTAINABLE FOOD OF THE FUTURE

Abstract: The paper explores recent developments and innovations in the field of baking. The future of bread is being shaped by dietary guidelines, together with scientific discoveries in health, consumer habits, and sustainable development goals. Nutritional improvements focus on development of functional bread properties such as lower energy density, higher fiber, protein, and protective compounds content. With the appropriate selection of raw materials, it is possible to influence the glycemic index, allowing for a slower postprandial blood sugar response. The use of raw materials rich in bioactive compounds, such as polyphenols, enables improvements in gut health and the management of endogenous inflammation. Alternative cereals and pseudocereals, which may be pre-fermented or undergo controlled germination, represent a significant step forward in bread development and contribute to greater dietary diversity. In addition, numerous initiatives are emerging for promotion the use of food by-products, such as brewer's spent grain and fruit and vegetable residues, which not only reduce waste but also enhance the fiber and bioactive compound content of the new product. Fermentation focuses on traditional techniques, such as starter cultures and sourdough fermentation, which improve digestibility and flavor, reduce antinutrients, and prolong the freshness of bread. Technological advances in baking include the application of cutting-edge methods such as 3D printing and bread personalization, enabling tailored nutritional profiles of products. Artificial intelligence is being used to optimize fermentation times, ingredient interactions, and baking processes, thereby improving product quality and energy efficiency. Sustainable practices in bread production involve a shift toward regenerative raw materials, emphasizing cereal cultivation with minimal environmental impact and targeted energy use. The efforts to achieve carbon-neutral bread baking include the use of green energy sources, hydrogen technologies, and CO₂ capture from fermentation processes.

Keywords: bread, trends, functionality, sustainable bakery development

¹ dr., Univerza na primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Polje 42 Izola, e-mail: boris.kovac@fvz.upr.si

² dr., Mlinotest d.d., Tovarniška 14, Ajdovščina, e-mail: monika.sporin@mlinotest.si

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sonja.smole@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Kruh že tisočletja predstavlja eno temeljnih živil človeške prehrane. Njegova prisotnost v skoraj vseh svetovnih kulturah ne potrjuje le njegove prehranske, temveč tudi simbolno in kulturno vrednost. V sodobnem času pa se tradicionalna vloga kruha prepleta z izzivi prehranske varnosti, ekonomične in trajnostne proizvodnje ter hitro spreminjajočih se potrošniških pričakovanj glede senzoričnih in prehranskih lastnosti izdelka, kot tudi potrošniških zahtev glede trajnostne proizvodnje hrane z najmanjšim možnim negativnim vplivom na okolje.

V okviru globalne prehranske verige kruh zavzema ključno mesto kot osnovno živilo z visoko energijsko gostoto in široko dostopnostjo. Njegova sestava in hranilna vrednost se lahko močno razlikujeta glede na lokalne navade, uporabljene surovine in tehnologijo priprave.

Z razvojem znanosti o prehrani in živilstvu se kruh vedno bolj razvija iz preprostega osnovnega živila v funkcionalen prehranski izdelek, ki lahko vsebuje več prehranske vlaknine, probiotike, vitamine ali celo bioaktivne sestavine z dokazanim vplivom na zdravje. Sodobni potrošniki iščejo izdelke z večjo prehransko vrednostjo, nižjim glikemičnim indeksom in manjšim deležem aditivov, kar sili pekarsko industrijo v razvoj novih formulacij, pogosto na osnovi starodavnih žit, polnozrnatih mok in fermentacijskih tehnologij.

Poleg prehranskih preferenc potrošnikov pa na sodobno pekarsko proizvodnjo vse bolj vplivajo tudi okoljski izzivi. Potreba po zmanjševanju ogljičnega odtisa in optimizaciji rabe virov usmerja raziskave in industrijsko prakso v iskanje trajnostnih rešitev, ki bodo kruh ohranile kot dostopno, zdravo in okolju prijazno živilo prihodnosti.

2 SMERNICE IN POTREBE SODOBNEGA POTROŠNIKA

Potrebe in pričakovanja sodobnih potrošnikov se spreminjajo hitreje kot kadar koli prej. Povečana ozaveščenost o zdravju, etičnih vidikih proizvodnje hrane in vplivu prehrane na okolje spodbuja povpraševanje po trajnostnih, hranilno uravnoteženih in funkcionalnih živilih. Te zahteve imajo daljnosežne posledice za prehransko industrijo, saj vplivajo na načine pridelave in predelave hrane – zlasti na področju rastlinskih in alternativnih beljakovin, uvajanja trajnostnih kmetijskih praks in razvoja živil z dodano funkcionalno vrednostjo.

Kakovost postaja osrednja tema ekonomike pridelave in predelave hrane. Potrošniki danes niso več zgolj pasivni kupci, temveč aktivni udeleženci, ki s svojimi nakupnimi odločitvami izražajo vrednote, kot so skrb za zdravje, dobro počutje, okolje in družbo. Njihove izbire vse bolj določajo kriteriji, kot so izvor in način pridelave hrane, hranilna sestava, prisotnost aditivov, vrsta embalaže ter njen vpliv na okolje (Petrescu in sod., 2019).

Uravnotežena prehrana je dinamični odgovor novim znanstvenim spoznanjem o vlogi posameznih hranil, živil in bioaktivnih spojin pri ohranjanju zdravja in preprečevanju kroničnih nenalezljivih bolezni. Številne študije potrjujejo, da imajo posamezna hranila, specifične skupine živil ter celostni prehranski vzorci pomembno vlogo pri varovanju zdravja in zmanjševanju tveganja za bolezni sodobnega časa (Cena in Calder, 2020). Neuravnotežena prehrana namreč lahko prispeva k razvoju hipertenzije, hiperholesterolemije, prekomerne telesne teže in kroničnih vnetnih stanj, ki povečujejo tveganje za srčno-žilne bolezni, diabetes tipa 2 in različne oblike raka (Koene in sod., 2016).

V želji po izboljšanju počutja si potrošniki vse pogosteje želijo izdelkov, ki nudijo jasno prepoznane koristi, so enostavni za razumevanje in imajo dokazane prehranske in zdravstvene učinke. Med prevladujoče trende sodijo izdelki z oznakami, kot so: »dobro za prebavo«, »z manj sladkorja«, »za zdravo črevesje«, »brez določenih sestavin« (npr. brez glutena, laktoze, alergenov), ter izdelki, ki podpirajo zdravo staranje in vitalnost. Ti trendi pomembno usmerjajo inovacije in lansiranje novih izdelkov na trg.

Ob skrbi za lastno zdravje pa potrošniki vse bolj upoštevajo tudi vpliv hrane na širšo skupnost in okolje. Narašča zanimanje za zmanjševanje količine zavržene hrane, uporabo biološko razgradljivih materialov in embalaže z

minimalnim vplivom na okolje. Prav tako narašča zanimanje za sveža, lokalno pridelana živila ter izdelke brez umetnih dodatkov in sintetičnih konzervansov.

Raziskava, izvedena med 797 potrošniki iz Belgije in Romunije, je pokazala, da največjo vlogo pri nakupnih odločitvah igrajo svežina, okus in videz hrane. Vendar pa postajajo vse pomembnejši tudi dejavniki, povezani z zdravjem in trajnostjo, kot so vrsta sestavin, hranilna vrednost, prisotnost aditivov, embalaža, poreklo živil in način pridelave (Petrescu in sod., 2019).

Zaradi naraščajočih pričakovanj potrošnikov glede etičnega ravnanja podjetij, kakovosti hrane in obvladovanja prehranskih tveganj, se pojavlja vse več standardov, certifikatov in oznak. Ti vključujejo označevanje geografske označbe porekla, ekološkega statusa, pravične trgovine, trajnostnega ribolova, humane obravnave živali in nizkega ogljičnega odtisa. Takšni atributi odražajo naraščajočo zahtevo po transparentnosti in družbeni odgovornosti v prehranskem sektorju.

Povpraševanje po ekološko pridelanih živilih prav tako narašča. Razlogi za to so večplastni: od zaznane večje hranilne vrednosti in pozitivnih učinkov na zdravje, do okolju prijazne pridelave z zmanjšano uporabo pesticidov in umetnih gnojil, kar pripomore k varovanju naravnih virov in biotske raznovrstnosti (Singh in Verma, 2017). Sodobni potrošnik tako postaja vse bolj informiran, zahtevnejši in okoljsko ozaveščen. Njegove prehranske izbire odsevajo osebne vrednote ter širše družbene trende, kar zahteva od prehranske industrije stalno prilagajanje, inovativnost in odgovorno delovanje.

3 FUNKCIONALNE PREHRANSKE IZBOLJŠAVE KRUHA

Več kot desetletje intenzivnih raziskav potrjuje, da je možno kruh obogatiti z različnimi funkcionalnimi sestavinami, ki pomembno izboljšajo njegovo prehransko vrednost ter prispevajo k zdravju potrošnikov (Ibrahim in sod., 2015; Kovač in sod., 2025; Šporin in sod., 2017). Dodatek grozdnih tropin in lupin pekanovih orehov pekovskim izdelkom je prispeval k večji vsebnosti mineralov, beljakovin, prehranske vlaknine in fenolnih spojin ter hkrati znižal glikemični indeks, kar kaže na njihov potencialni zaščitni učinek na zdravje (Subiria-Cueto in sod., 2025). Podobno so González Jiménez in sod. (2025) z obogatitvijo belega kruha z vlaknino jama (*Oxalis tuberosa*, OT) znižali glikemični indeks brez negativnega vpliva na senzorične lastnosti. Prehranska vlaknina OT tako predstavlja učinkovito funkcionalno sestavino za preprečevanje presnovnih bolezni, vključno s metaboličnim sindromom in sladkorno boleznijo tipa 2.

Uporaba dodatka frakcij ječmenove moke obogati kruhe s topnimi beta glukani, ki jih v pšenici skoraj ni (Kovač in Rijavec 2024). Učinek se izraža v znatnem znižanju glikemičnega indeksa kruha brez vpliva na senzorično sprejemljivost (Mansoor in sod., 2022). Nadalje, sušena okara, stranski produkt proizvodnje ovsenih rastlinskih napitkov, se je izkazala kot učinkovita sestavina za obogatitev kruha s proteini in prehransko vlaknino (Nachtigall in sod., 2025). Dodatek prahu sladkovodne mikroalge *Chlorella vulgaris* je povečal vsebnost beljakovin, maščob, vlaknin, pepela in aminokislin (Ali in sod., 2025), medtem ko je dodatek prahu artičoke izboljšal prehranske lastnosti kruha, z optimalno formulacijo pri 10 % deležu, ki je zagotavljala ugodno razmerje med bioaktivnimi snovmi, senzorično sprejemljivostjo in nižjim glikemičnim indeksom (Bavaro in sod., 2025).

V raziskavi Jahan in sod. (2023) je bila kot funkcionalna sestavina uporabljena moka datljevih semen, sicer pogosto zavrženi vir prehranske vlaknine, s katerim so uspešno nadomestili do 5 % pšenične moke ter s tem obogatili kruh z vlaknino in polifenoli, brez pomembnih negativnih vplivov na senzorične lastnosti. Tudi dodatek črnega korenja v prahu je prispeval k večji vsebnosti fenolov, antocianinov, flavonoidov, mineralnih snovi in prehranske vlaknine, s čimer je povečal antioksidativni potencial kruha (Pandey in sod., 2024).

Kombinacija prosa in zrele bananine kaše se je izkazala kot uspešna pri izboljšanju prehranskega profila pšeničnega kruha z večjo vsebnostjo beljakovin, prehranske vlaknine, mineralov (kalija, železa, cinka) in antioksidativnih spojin (Abedin in sod., 2025). Tudi moka vinala (*Neltuma ruscifolia*), stročnice z visoko vsebnostjo vlaknin in beljakovin, je izboljšala hranilne lastnosti pšeničnega kruha. Kljub določenim spremembam

v teksturi in reoloških lastnostih je bil kruh z dodatkom teh mok senzorično dobro sprejet (Itatí Ojeda in sod., 2023).

Dodatek semen lubenice je povečal vsebnost beljakovin in mikrohranil, kot so fosfor, kalij, železo in kalcij (Anang in sod., 2018), medtem ko je rabarbara v prahu prispevala k večji vsebnosti vlaknin, pepela, maščob ter fenolnih spojin in antioksidantov. Kruh s 4 % rabarbare v prahu je bil ocenjen kot najboljši glede senzoričnih lastnosti (Göksu in sod., 2024).

Dodatek ingverjevega prahu je povečal vsebnosti skupnih fenolov, flavonoidov in mineralov (kalcija, kalija, fosforja, magnezija), kruh pa je izkazoval izboljšano antioksidativno aktivnost, ob tem pa so bile senzorične lastnosti odvisne od koncentracije (Özcan, 2022). Tudi dodatek čebule v prahu je prispeval k antioksidativnim, protimikrobnim in antidiabetičnim lastnostim izdelka. Kljub določenim zmanjšanjem fizikalno-kemijskih parametrov, kot so vsebnost glutena, vlage in vlaknine, je kruh ohranil prožno in mehko teksturo ter dosegel visoko stopnjo sprejemljivosti (Balakrishnaraja in sod., 2021).

Študija je pokazala, da etanolni ekstrakt zvezdastega janeža, bogat s trans-anetolom, estragolom in linaloolom, učinkovito zavira rast plesni *Penicillium roqueforti* in *Aspergillus niger* ter podaljša obstojnost kruha tudi do 6 dni (Bao in sod., 2023). Dodatek do 3,5 % izvlečka rožiča ni poslabšal senzoričnih lastnosti, je pa izboljšal količino skupnih fenolov, antioksidativno in protimikrobno aktivnost proti bakteriji *Bacillus cereus* in plesnima *Penicillium verrucosum* in *Aspergillus flavus* (Zahorec in sod., 2024a).

Zbrani rezultati številnih študij kažejo, da je možno s premišljenim dodatkom funkcionalnih sestavin bistveno izboljšati hranilno vrednost kruha in mu dodati zdravju koristne lastnosti, ob tem pa ohraniti ali celo izboljšati senzorično kakovost ali celo obstojnost končnega izdelka.

4 INOVATIVNE SUROVINE IN TEHNIKE OBDELAVE

Sodobna prehranska industrija se nenehno razvija in išče nove načine za izboljšanje kakovosti in hranilne vrednosti živil. V zadnjem času se povečuje zanimanje za inovativne surovine, ki ne le obogatijo končni izdelek, ampak tudi prispevajo k večji trajnosti proizvodnje hrane. V tem kontekstu so psevdožita, kot so kvinoja, amarant, kaniva in ajda, postala vse bolj cenjena zaradi svoje uravnotežene aminokislinske sestave, visoke hranilne vrednosti in odpornosti na podnebne spremembe. Te rastline ponujajo odličen vir rastlinskih beljakovin, prehranske vlaknine, vitaminov in drugih bioaktivnih snovi, ki imajo pomembne koristi za zdravje. Poleg tega imajo psevdožita odlične tehnološke in funkcionalne lastnosti, ki jih je mogoče še dodatno izboljšati z različnimi postopki obdelave, hkrati pa uspevajo v zahtevnih okoljskih razmerah, kar jih dela še posebej primerne za prihodnost (Vidaurre-Ruiz in sod., 2023).

Psevdožita, bogata s prehransko vlaknino, vitamini, minerali ter fenolnimi spojinami in drugimi bioaktivnimi snovmi, imajo potencial za preprečevanje kroničnih bolezni, kot so rak, sladkorna bolezen, hipertenzija in bolezni srca in ožilja. Zaradi tega imajo psevdožita širok potencial za vključitev v predelana funkcionalna živila, ki niso uporabna le za bolnike s celiakijo, ampak tudi za posameznike s težavami, ki jih povzročajo bolezni življenjskega sloga (Thakur in sod., 2021).

Več raziskav je preučevalo vpliv vključitve moke iz prosa v različne deleže mešanic za pripravo kruha. Večanje dodatka sicer negativno vpliva na reološke lastnosti testa in na volumen kruha (Kovač, 2024). Passi in sod. (2023) so ugotovili, da je bila mešanica s 30 % prosene moke najbolj sprejemljiva glede prehranskih in senzoričnih lastnosti kruha, pri čemer so povečanje vsebnosti beljakovin, vlaknine, mineralov ter antioksidativne aktivnosti pripomogli k izboljšanju prehranske vrednosti izdelka.

Poleg izbire surovin je ključen tudi razvoj naprednih tehnik obdelave, ki omogočajo izkoriščanje njihovih polnih potencialov. Tehnike, kot so kaljenje, ekstrudiranje, fermentacija in mikrovalovno obdelovanje, omogočajo izboljšanje teksture, povečanje hranilne vrednosti, podaljšanje trajnosti in zmanjšanje negativnega vpliva na

okolje. Kombinacija inovativnih surovin in tehnoloških pristopov omogoča razvoj funkcionalnih živil, ki ustrezajo potrebam sodobnega potrošnika, ki išče hranljive, trajnostne in okusne izdelke.

Raziskava uporabe termoplastičnega ekstrudiranja kot predobdelavo za polnozrnate moke (koruza, rjav riž in proso) ter vključitev kaljenega prosa v izdelavo brezglutenskega kruha je pokazala, da ekstrudiranje izboljša vpojne lastnosti moke, viskoelastične lastnosti testa ter poveča specifičen volumen kruha, medtem ko je vključitev kaljenega prosa izboljšala mehkobo sredice (Comettant-Rabanal in sod., 2021).

Hidrotermalno (HT) obdelano proso je v primerjavi z naravnim prosom pokazalo višjo α -amilazo aktivnost, temnejšo barvo in slabšo prebavljivost škroba. Kruh z dodatkom HT prosa je dosegel večji specifični volumen ter manjšo trdoto in žvečljivost, poleg tega je vseboval več prehranske vlaknine, fitatov in fenolnih kislin, medtem ko je bila prebavljivost škroba in beljakovin enaka kot pri pšeničnem kruhu (Onyango in sod., 2020). To nakazuje na pomembnost različnih obdelav za izboljšanje tehnoloških in prehranskih lastnosti psevdžit.

Podobno so raziskave o funkcionalnem kruhu, pripravljenem iz mešanic pšenične moke, kaljenega prosa in okare, pokazale, da optimizirana mešanica izboljša antioksidativne lastnosti in sprejemljivost kruha, hkrati pa poveča vsebnost prehranskih vlaknin, kalcija, fosforja in natrija (Phebean Ibidapo in sod., 2020). Ta raziskava poudarja širši potencial vključevanja različnih naravnih virov vlaknin in bioaktivnih snovi za izboljšanje hranilne vrednosti kruha, podobno kot to ugotavljajo raziskave o mikrovalovno obdelani kvinoji, kjer je obdelava izboljšala lastnosti testa, povečala specifičen volumen kruha ter zmanjšala trdnost in neprijetne zeliščne okuse (Vicente in sod., 2024).

Poleg tega so raziskave o fermentaciji psevdžit pokazale, da večji delež fermentiranega testa povečuje vsebnost mineralnih snovi, beljakovin, skupnih fenolnih snovi in antioksidativno aktivnost v kruhu, pri čemer je kvinoja izkazala največje vrednosti (Yeşil in Levent, 2022).

Raziskave o vplivu kvinoje na pšenični kruh so pokazale, da dodatek kvinoje zmanjšuje prebavljivost škroba, kar pomaga znižati glikemični indeks kruha, pri tem pa se trdota in žvečljivost kruha ohranita na sprejemljivi ravni (Wang in sod., 2021). Podobno so raziskave o dodatku plantane in amaranta v pšenično moko pokazale izboljšanje vsebnosti makrohranil, kot so beljakovine, vlaknine in energijska vrednost. Kruh z mešanico pšenice, plantane in amaranta je imel boljše antioksidativne lastnosti ter nizek glikemični indeks, kar kaže na njegov potencial kot funkcionalni izdelek (Olugbuyi in sod., 2023).

Študija o uporabi moke amaranta v kruhu je pokazala, da je ta pomembno povečala vsebnost beljakovin, lipidov, vlaknin, pepela in mio-inozitol fosfatov. Poleg tega je kruh z moko amaranta izboljšal vsebnost prehranske vlaknine, železa in cinka ter prispeval k počasnejšemu staranju sredice (Miranda-Ramos in sod., 2019). Vse te raziskave kažejo na potencialno uporabnost psevdžit in drugih alternativnih surovin za razvoj funkcionalnih in hranilno obogatenih pekovskih izdelkov, ki so tako prehransko vrednejši kot tudi okolju prijazni.

Zanimivo pa je tudi raziskovanje možnosti uporabe kaljenja in fermentacije ječmena, kjer postopek zmanjšuje vsebnost škroba in povečuje fenolne spojine ter biološko dostopnost beljakovin. Fermentacija kaljenega ječmena s selekcioniranimi mlečnokislinskimi bakterijami pa še dodatno izboljša hranilne lastnosti, poveča koncentracijo prostih aminokislin in gama-aminobutirčne kisline ter zmanjša vsebnost fitinske kisline. Uporaba kaljenega ječmenovega kislega testa lahko izboljša prehranske in tehnološke lastnosti kruha ter zmanjša potrebo po komercialnih encimih in izboljševalcih moke, ki se običajno uporabljajo v pekarski industriji (Perri in sod., 2023).

Kotsiou in sodelavci (2023) so primerjali učinke različnih postopkov obdelave leče – kaljenja, liofilizacije in praženja – na funkcionalne lastnosti moke ter posledično na kakovost kruha pri delni zamenjavi pšenične moke. Kaljenje je povzročilo spremembe v sekundarni strukturi lečinih beljakovin, kar je vplivalo na večjo retrogradacijo škroba in tršo sredico kruha. Liofilizacija kaljenih semen je ohranila te strukturne spremembe, kar se je odrazilo v kruhu z najmanjšim specifičnim volumnom in najhitrejšim staranjem. Nasprotno pa je praženje po kaljenju delno odpravilo te spremembe v beljakovinski matrici in povzročilo delno želatinizacijo škroba, kar je prispevalo

k boljšim reološkimi lastnostmi testa (večja viskoznost in elastičnost) ter boljšim teksturnimi lastnostmi kruha. Kruh z 10 % dodatkom moke iz pražene kaljene leče se je izkazal kot senzorično najbolj sprejemljiv zaradi mehkejši sredice in izrazite, prijetne pražene arome. Ti rezultati kažejo, da je kombinacija kaljenja in praženja učinkovit tehnološki pristop za izboljšanje hranilne in funkcionalne vrednosti kruha brez poslabšanja njegove kakovosti.

Protiglivi spojine iz rastlinskih matrikov, pridobljene iz hidrolizata leguminoz (grah, leča, bob), so testirali proti različnim glivam, vključno s *Penicillium roqueforti* in *Aspergillus parasiticus*. Ugotovili so, da so aktivne spojine v glavnem proteini (nsLTP, ubikvitin, lektin alfa-1 veriga, defensini) ter peptidi, ki so nastali med hidrolizo, pri tem pa je kruh z dodanim hidrolizatom leguminoz imel daljšo obstojnost brez večjih sprememb v kemijski, strukturni in senzorični kakovosti (Rizzello in sod., 2017).

Raziskava o ekstrakciji polifenolov iz olupkov rambutana z ohmskim segrevanjem kaže, da s tem postopkom učinkovito pridobimo bioaktivne spojine, kot so galna kislina in geraniin, ki v kruhu prispevajo k antioksidativnim lastnostim in podaljšajo obstojnost kruha (Torgbo in sod., 2022). Poleg tega je izvleček rambutana izkazal močno protiglivično delovanje, kar je ključnega pomena za trajnost pekovskih izdelkov.

Povzamemo lahko, da imajo inovativne surovine in tehnike obdelave ključen potencial za razvoj funkcionalnih in trajnostnih živil, ki ne le izboljšajo prehransko vrednost, ampak tudi pripomorejo k boljši kakovosti in daljši trajnosti pekovskih izdelkov.

5 UPORABA STRANSKIH PROIZVODOV V PEKARSKI INDUSTRIJI

Pri predelavi hrane nastanejo številni še uporabni stranski proizvodi, ki jih pogosto zavržemo kot odpadke. S trajnostnim pristopom k proizvodnji hrane se vse bolj uveljavlja uporaba stranskih živilskih proizvodov kot novih sestavin drugih živil. S tem zmanjšujemo količino odpadkov, ob tem pa lahko izboljšamo prehransko vrednost in tudi obstojnost izdelkov, vključno s pekovskimi izdelki in kruhom. Vedno večji pomen pri tem pridobivajo prehransko bogati, a cenovno ugodni stranski proizvodi živilske industrije, na primer lupine sadja in zelenjave, otrobi žit, pogače semen, iz katerih pridobivajo olja, stranski proizvodi industrije sladkorja, pivovarstva, vinarstva in žganjarstva (Martins in sod., 2017; Šoronja-Simović in sod., 2019; 2022; Zahorec in sod., 2024a,b).

Le 20 % artičoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) se običajno uporablja v prehrabeni industriji, pri čemer ostali deli, kot so stebila in listi, predstavljajo potencialne odpadke. Vendar pa je študija Proetto in sodelavcev (2024) pokazala, da je dodatek 7 % moke iz artičokinih stebel ali listov v brezglutensko testo povečal vsebnost prehranske vlaknine in antioksidantov, brez večjih sprememb v fizikalno-kemijskih lastnostih kruha.

Podobno raziskava Xin in sodelavcev (2022) kaže, da ličijeva pulpa, stranski proizvod pri pridobivanju soka ličija, predstavlja dragocen vir vlaknin. Dodatek do 15 % ličijeve pulpe v kruh je izboljšal njegov volumen in povečal vsebnost vlaknin, kar pripomore k boljši prehranski vrednosti izdelka.

Lan je pomembna oljna rastlina, pri kateri po ekstrakciji olja iz semen nastajajo stranski proizvodi z visoko prehransko vrednostjo. Študija je pokazala, da dodatek 10 % lanenih tropin v pšenični kruh izboljša njegovo hranilno vrednost, poveča donos in vsebnost vlage v sredici, obenem pa ohrani sprejemljive senzorične lastnosti, kar potrjuje njihov potencial kot funkcionalne sestavine v proizvodnji bolj zdravih pekovskih izdelkov (Wirkijowska in sod., 2020). V mikrobiološkem obremenitvenem testu kruha z 10 % dodatkom moke lanene in oljčne pogače rast plesni *Aspergillus flavus* in *Aspergillus ochraceus* ter *Penicillium verrucosum* in *Penicillium nordicum* ni bila zavrta, obenem pa sta enaka dodatka rožičeve moke in moke, pripravljene iz bučne pogače, zavrla rast vseh testiranih plesni. To ju uvršča med zelo zanimive surovine za nadaljnji razvoj kakovostnih in obstojnejših pekovskih izdelkov (Radešić, 2019).

Fermentirani stranski proizvodi, kot so otrobi in kalčki, so lahko koristna funkcionalna surovina. Pontonio in sodelavci (2017) so dokazali, da je 15 % dodatek fermentiranih mlevskih stranskih proizvodov z dvema sevoma

bakterij *Lactobacillus plantarum* in *Lactobacillus rossiae* izboljšal vsebnost prehranske vlaknine, prebavljivost beljakovin ter zmanjšal glikemični indeks pšeničnega kruha, kar potrjuje njihov potencial za razvoj zdravih pekovskih izdelkov.

Raziskava Purića in sodelavcev (2020) je proučevala vpliv razmaščenih jabolčnih tropin na pšenični kruh. Dodatki v količinah 5 % in 20 % so izboljšali prehranski profil kruha, povečali vsebnost vlaknin, beljakovin, polifenolov ter antioksidativni potencial, zlasti pri 5 % dodatku, ki je obenem ohranil najboljše senzorične lastnosti.

Zhang in sodelavci (2023) so ugotovili, da dodatek 10 % meloninih semen v kruh poveča vsebnost vlaknin za več kot petkrat, medtem ko dodatek 10 % konopljne moke, pridobljene iz pogače po stiskanju olja, pripomore k večji hranilni vrednosti kruha, predvsem zaradi večje vsebnosti beljakovin ter makro- in mikroelementov, kot je železo (Pojić in sod., 2022).

Raziskave, ki so preučevale sestavo rožičeve moke (Rico in sod., 2018), so pokazale, da imajo stranski proizvodi rožičevca, kot so stroki in semena, večjo vsebnost fenolnih spojin in boljšo antioksidativno aktivnost v primerjavi z morskimi algami, kar nakazuje njihov potencial za obogatitev funkcionalnih pekovskih izdelkov. Wronkowska in sodelavci (2024) so ugotovili, da dodatek 4 % praženih ajdovih luščin povečuje vsebnost fenolnih kislin, flavonoidov in dostopnega lizina med fermentacijo testa, hkrati pa izboljša antioksidativno sposobnost.

Rezultati raziskave Zhao in sodelavci (2025) so pokazali, da dodatek beljakovinskega hidrolizata iz ostankov raketovca učinkovito ščiti testo pred negativnimi učinki ponavljajočih se ciklov zamrzovanja in odtajanja. V primerjavi s komercialno dostopnimi beljakovinami proti poškodbam zaradi zamrzovanja, so beljakovine raketovca bolje ohranjale stabilnost glutenske mreže in funkcionalne lastnosti testa z uravnavanjem prenosa vlage.

V zadnjih letih več raziskav obravnava tudi možnost uporabe pivskih tropin kot protiglivične sestavine v kruhu. V domači raziskavi z mikrobiološkim obremenitvenim testom so povprečno stopnjo rasti plesni *Penicillium nordicum* zmanjšali 10 % zamenjava pšenične moke z moko posušenih grozdnih tropin merlota, posušenih pivovarskih tropin, rožičeve moke ter moke bučne pogače (Radešić, 2019). Dopazo in sodelavci (2024) so ugotovili, da 10 % posušenega dodatka iz pivskih tropin ni vplival na tehnološke lastnosti kruha, hkrati pa je učinkovito podaljšal obstojnost kruha in zmanjšal plesenje in posledično koncentracijo aflatoksinov za 86 %, kar je pomemben korak v smeri trajnostne proizvodnje hrane.

Uporaba stranskih proizvodov v pekarstvu ne le zmanjšuje količino odpadkov, temveč omogoča razvoj funkcionalnih živil, ki prispevajo k izboljšanju prehranske vrednosti in trajnosti izdelkov. Raziskave kažejo, da lahko različni stranski proizvodi agroživilstva učinkovito obogatijo kruh z vlakninami, antioksidanti, polifenoli in drugimi hranili, brez poslabšanja senzoričnih lastnosti, kar pomeni pomemben korak k trajnostni in funkcionalni proizvodnji pekovskih izdelkov.

6 NAPREDNE TEHNOLOGIJE V RAZVOJU PEKOVSKIH IZDELKOV

V sodobnem prehranskem okolju se kruh kot tradicionalno osnovno živilo postopoma preobraža v funkcionalen in trajnostno naravnan izdelek prihodnosti. Napredek na področju prehranske znanosti in tehnologije, zlasti s pomočjo umetne inteligence (UI), aditivne proizvodnje (npr. 3D tiskanja) in personalizirane prehrane, odpira vrata inovacijam, ki spreminjajo načine proizvodnje, obdelave in prilagajanja pekovskih izdelkov specifičnim prehranskim potrebam posameznika.

Ena izmed pomembnejših tehnoloških inovacij v pekarstvu je uporaba 3D tiskanja, ki omogoča natančno oblikovanje, nadzor nad sestavo in ustvarjanje izdelkov z izboljšanimi funkcionalnimi lastnostmi. V eni izmed študij so raziskovali vpliv različnih metod 3D tiskanja, batnega in spiralnega tiskalnika, na kakovost, teksturo in antioksidativne lastnosti fermentiranega črnega pšeničnega parjenega kruha. Ugotovili so, da vrsta tiskalnika pomembno vpliva na vsebnost bioaktivnih spojin: spiralni tiskalnik je prispeval k večji vsebnosti fenolov in antioksidativni aktivnosti, medtem ko je batni tiskalnik rezultiral v večji vsebnosti flavonoidov (Ma in sod., 2024).

Ugotovili so tudi, da imajo reološke in fermentacijske lastnosti testa ključno vlogo pri uspešnosti 3D tiskanja. Raziskava Jiang in sod., (2024) je pokazala, da je testo s 13 % vsebnostjo glutena doseglo najboljše rezultate pri tisku in nadaljnji termični obdelavi. Z uporabo regresijskih modelov so natančno napovedali ključne parametre za oceno primernosti testa, kar potrjuje potencial naprednih modelov v optimizaciji pekovskih procesov.

Hkrati pa UI postaja nepogrešljivo orodje v razvoju funkcionalnih in trajnostnih živil, saj omogoča optimizacijo proizvodnje, vodenje fermentacijskih procesov in razumevanje mikrobnih interakcij znotraj njih (Carbonetto in sod., 2020; Yuan in sod., 2025). UI omogoča nadzor kakovosti in celo individualizacijo prehrane. UI v pekarstvu lahko podpira analizo sestavin, prilagajanje receptov ter napovedovanje potrošniških potreb, kar je ključno za zmanjšanje odpadkov in povečanje učinkovitosti proizvodnje (Zatsu in sod., 2024). Poleg tega se z uporabo algoritmov strojnega učenja razvijajo personalizirani prehranski sistemi. Ti so lahko zasnovani na genetskih in življenjskih podatkih posameznikov ter omogočajo ciljno usmerjena prehranska priporočila tudi v kontekstu pekovskih izdelkov (Kirk in sod., 2022; Detopoulou in sod., 2023).

Povzamemo lahko, da napredne tehnologije, kot so 3D tiskanje, umetna inteligenca in personalizirana prehrana, pomembno prispevajo k preobrazbi kruha iz tradicionalnega v trajnostno in funkcionalno živilo prihodnosti. Njihova integracija omogoča ustvarjanje pekovskih izdelkov, ki niso le hranilno bogatejši, temveč tudi prilagojeni individualnim potrebam in okoljskim izzivom sodobne prehranske verige.

7 FERMENTACIJA KOT KLJUČNO ORODJE ZA FUNKCIONALNOST

Fermentacija je že dolgo prepoznana kot pomemben tehnološki postopek v proizvodnji pekovskih izdelkov, vendar se njena vloga v zadnjih letih širi tudi na področje izboljšanja hranilne vrednosti, prebavljivosti in senzoričnih lastnosti teh izdelkov. S sodelovanjem različnih mikroorganizmov, kot so mlečnokislinske bakterije in kvasovke, fermentacija pomaga pri razgradnji antinutritivnih snovi, kot je fitinska kislina, ter povečuje biološko razpoložljivost pomembnih mineralov, kot so železo, cink in magnezij. Hkrati se med fermentacijo tvorijo številne bioaktivne spojine, ki imajo lahko pozitivne učinke na zdravje, kot so antioksidativni, protivnetni in probiotični učinki. Pri uporabi alternativnih žit in mok z večjo vsebnostjo vlaknin ali manj glutena, fermentacija pomembno prispeva k izboljšanju strukture, okusa in obstojnosti pekovskih izdelkov. Poleg tega pozitivno vpliva tudi na teksturo, aromo in prehransko vrednost kruha, kar posledično povečuje sprejemljivost in zadovoljstvo potrošnikov. S sodobnimi pristopi, kot so nadzorovana fermentacija, uporaba selekcioniranih sevov mikroorganizmov in napredni fermentacijski modeli, se odpira širok spekter možnosti za razvoj funkcionalnih pekovskih izdelkov prihodnosti, ki združujejo tradicionalno kakovost s sodobnimi prehranskimi zahtevami.

V študiji, ki je preučevala vpliv mešane fermentacije z uporabo kvasovke *Kluyveromyces marxianus* in mlečnokislinskih bakterij *Lactobacillus plantarum* ter *Pediococcus pentosaceus* na fizikalno-kemijske in prehranske lastnosti kislega testa iz bele fižolove moke, so dokazali, da je mešana fermentacija učinkovito zmanjšala vsebnost antinutritivnih snovi, izboljšala mikrostrukturo testa ter povečala vsebnost odpornega škroba in počasneje prebavljivega škroba. Poleg tega se je povečala prebavljivost beljakovin, pri živalih, ki so uživale kruh iz kislega testa, pa so bile opazne spremembe v sestavi črevesne mikrobiote, povečana proizvodnja kratkoverižnih maščobnih kislin, izboljšana glukozna toleranca ter zmanjšanje vnetnih citokinov (Chen in sod., 2023).

Podobno je študija preučevala izboljšanje prehranskih in funkcionalnih lastnosti kruha z uporabo moke iz zrn fižola (*Phaseolus vulgaris*) in ovsa (*Avena sativa*), ki so bila biotransformirana s pomočjo glive *Pleurotus ostreatus*. Rezultati so pokazali, da je imel kruh iz fermentiranih mok večjo antioksidativno aktivnost v primerjavi s kruhom iz nefermentiranih mok, pri čemer je antioksidativna aktivnost ostala ohranjena tudi po simulaciji prebave. Poleg tega so potrdili večjo vsebnosti bio-dostopnih beljakovin in vlaknin, kruh pa je imel mehkejšo teksturo, spremenjeno barvo ter odlično senzorično sprejemljivost (Páez in sod., 2023).

Poleg izboljšanja prehranskih lastnosti pa fermentacija v pekarski industriji pripomore tudi k protiglavnemu delovanju pekovskih izdelkov, kar ima velik pomen za podaljšanje njihove obstojnosti. V raziskavi, ki je

preučevala uporabo kombuče kot alternativnega starterja za proizvodnjo kislega testa, so rezultati pokazali, da fermentacija s kombučo znižuje pH, povečuje skupno kislost in izboljšuje teksturo kruha ter podaljša njegovo obstojnost (Kilmanoglu in sod., 2023).

Raziskava o protiglavnem delovanju pšeničnih kalčkov, fermentiranih z *Lactobacillus plantarum* LB1 in *Lactobacillus rossiae* LB5, je pokazala, da je bil hidrolizat kruha, fermentiran z mlečnokislinskimi bakterijami, učinkovit proti različnim glivam, pri čemer je mravljična kislina izkazala največjo protiglavno aktivnost. Kruh, narejen s 4 % liofiliziranega fermentiranega pšeničnega hidrolizata, je pokazal zaščito pred plesnijo do najmanj 28 dni (Rizzello in sod., 2011; Noshirvani in Abolghasemi Fakhri, 2025).

Raziskava, ki je preučevala uporabo nadzorovane fermentacije kaljenih stročnic za izboljšanje kakovosti in obstojnosti pšeničnega kruha, je pokazala, da se je po fermentaciji mungo fižola s starter kulturo *Levilactobacillus brevis* in obogatitvijo z ingverjevim ekstraktom obstojnost kruha podaljšala za 7 dni (Rizi in sod., 2024). Slednje ugotovitve, kot tudi raziskave Hernández-Figueroa in sodelavcev (2023), potrjujejo potencial fermentacije kot ključnega orodja za razvoj funkcionalnih pekovskih izdelkov, ki so ne le hranilno bogati, ampak tudi bolj obstojni brez uporabe sintetičnih konzervansov.

Fermentacija v pekarski industriji tako ne le izboljšuje teksturo in okus pekovskih izdelkov, ampak igra ključno vlogo pri povečanju njihove hranilne vrednosti, prebavljivosti in trajnosti. Z uporabo različnih mikroorganizmov, kot so kvasovke in mlečnokislinske bakterije, lahko dosežemo pomembne prehranske koristi, vključno z večjo vsebnostjo vlaknin, beljakovin, antioksidantov ter boljšo prebavljivostjo škroba. Sodobni pristopi, kot so nadzorovana fermentacija in biotransformacija, omogočajo razvoj inovativnih funkcionalnih pekovskih izdelkov, ki so v skladu z naraščajočimi potrebami potrošnikov po zdravju prijazni in trajnostni hrani.

8 TRAJNOSTNI VIDIK PROIZVODNJE KRUHA

Po podatkih Resnik Planinc in Ilc (2010) je trajnostni razvoj »način družbenega in gospodarskega razvoja, ki je usmerjen v izboljšanje kakovosti življenja sedanjih generacij, obenem pa teži k ohranjanju in zagotavljanju najboljših možnosti za prihodnje generacije«. Trajnostna pridelava žit in energijsko racionalni postopki v proizvodnji kruha predstavljajo pomemben korak k zmanjšanju negativnega vpliva žitnopredelovalne industrije na okolje. Ponovna uporaba nezahtevnih starih sort žit (Jönsson in sod., 2025) ter pridelava z uporabo sonaravnih metod, kot so kolobarjenje, uporaba ekoloških gnojil in ohranjanje biotske raznovrstnosti, prispeva k dolgoročni rodovitnosti tal in zmanjšanju emisij toplogrednih plinov.

Uporaba lokalno pridelanih žit poleg okoljskih koristi spodbuja tudi lokalno ekonomijo in prispeva k prehranski varnosti. Resnik Planinc in Ilc (2010) poudarjata, da izbira hrane vpliva na zdravje, kakovost okolja, delovna mesta v skupnosti in kulturo družbe, kar jasno kaže, da trajnostna pridelava in predelava kruha presega le okoljski vidik in posega tudi v družbeno-ekonomske dimenzije.

Pekarska industrija sodi med energetske intenzivne sektorje, saj procesi, kot so zames in obdelava testa, fermentacija in peka zahtevajo velike količine energije. Za povečanje energetske učinkovitosti se uvajajo sodobne tehnične rešitve, kot so energetske varčne peči, rekuperacija toplote, optimizacija proizvodnega toka vodika in zajemanje CO₂ iz fermentacijskih procesov. Ključno vlogo pri zmanjšanju ogljičnega odtisa pečenja kruha prevzemajo alternativni zeleni viri ter uporaba toplote, generirane iz lesne biomase. Uporaba obnovljivih virov energije lahko bistveno zmanjša okoljski vpliv, poleg tega pa pogosto dolgoročno tudi znižuje stroške proizvodnje. Poleg tehničnih nadgradenj se za bolj trajnostno delovanje uvajajo tudi digitalni sistemi za spremljanje porabe energije, ki omogočajo natančno analizo in usmerjene ukrepe za njeno optimizacijo.

V pekarski industriji se zavrže tudi znatna količina polizdelkov, testa in kruha, kar predstavlja tako okoljski kot ekonomski problem. Za zmanjšanje živilskih odpadkov podjetja uvajajo strategije, kot so predelava za krmo ali biokonverzija v energijo (Ben Rejeb in sod., 2022). Poleg tega pekarne uvajajo sisteme za sledenje, ki omogočajo natančno spremljanje in zmanjševanje izgub in odpadkov v proizvodnem procesu. Eden izmed inovativnih

pristopov k zmanjševanju odpadkov in podaljšanju trajnosti kruha je bioproceniranje odvečnega kruha. Hidrolizat kruha, fermentiran z izbranimi mlečnokislinskimi bakterijami, kot je *Lactobacillus brevis* AM7, je pokazal protiglivi lastnosti, saj je imel širok spekter inhibicije proti testiranim glivam. Protiglivi aktivnost se je gibala med 20 in 70 %, kruh, pripravljen z uporabo tega fermentiranega hidrolizata, pa je imel obstojnost brez plesnenja do 10 dni (Nionelli in sod., 2020).

9 ZAKLJUČEK

Kruh, eno najstarejših in najpomembnejših osnovnih živil, danes nove zahteve potrošnikov in družbe poskušajo preoblikovati v smeri večje funkcionalnosti, personalizacije in trajnosti. Na podlagi sodobnih raziskav postaja očitno, da z uporabo inovativnih surovin, alternativnih žit, stranskih proizvodov ter naprednih tehnologij (kot so 3D tiskanje in UI), kruh lahko preseže svojo tradicionalno vlogo in postane ključni del prehranskega sistema prihodnosti.

Fermentacija, biotransformacija in uporaba lokalnih, regenerativnih virov omogočajo proizvodnjo kruha, ki je bolj hranilen in prebavljiv ter okolju in zdravju prijaznejši. V povezavi s potrošniškimi pričakovanji, usmerjenimi v personalizacijo prehrane, zmanjšanje odpadkov in višjo etično vrednost hrane, kruh postaja idealna platforma za uresničevanje ciljev trajnostnega razvoja.

S tem se oblikuje nova paradigma pekarstva, v kateri kruh kot vsakdanja hrana ni več le vir energije, temveč tudi orodje za krepitev zdravja, zmanjševanje vpliva na okolje in gradnjo bolj odpornih in trajnostnih lokalnih prehranskih sistemov. Ključno vlogo pri tem imajo sodelovanje znanosti, industrije in potrošnikov ter podpora javnih politik, ki spodbujajo inovacije in trajnostne prakse v prehranski verigi.

10 VIRI

- Abedin J., Tajria J., Abdullah A. T. M., Hassan M. T., Farzana T. 2025. Enhancing nutritional and antioxidant properties of wheat bread: The role of foxtail millet and ripe banana pulp. *Food Chemistry Advances*, 6: 100932
- Ali R. F. M., El-Anany A., Almujaaydil M. S., ALgheshairy R. M., Alhomaidd R. M., Alharbi H. F. 2025. Nutritional characteristics and sensory aspects of pan bread fortified with different quantities of *Chlorella vulgaris* powder. *Food Chemistry Advances*, 6: 100940
- Anang D. A., Pobee R. A., Antwi E., Obeng E. M., Atter A., Ayittey F. A., Boateng J. T. 2018. Nutritional, microbial and sensory attributes of bread fortified with defatted watermelon seed flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 53, 6: 1468–1475
- Balakrishnaraja R., Swetha V., Srivigneswar S., Sakthi Priyaa S. S., Gowrishankar L. 2021. Formulation and development of functionally enriched onion (*Allium cepa*) bread. *Materials Today: Proceedings*, 47, 9: 1835–1841
- Bao Z., Fan M., Hannachi K., Li T., Zhao J., Li Y., Qian H., Wang L. 2023. Antifungal activity of star anise extract against *Penicillium roqueforti* and *Aspergillus niger* for bread shelf life. *Food Research International*, 172: 113225
- Bavaro A. R., De Bellis P., Montemurro M., D'Antuono I., Linsalata V., Cardinali A. 2025. Characterization and functional application of artichoke bracts: Enrichment of bread with health promoting compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 215: 117256
- Ben Rejeb I., Charfi I., Baraketi S., Hached H., Gargouri M. 2022. Bread surplus: a cumulative waste or a staple material for high-value products? *Molecules* 27:8410
- Carbonetto B., Nidelet T., Guezennec S., Perez M., Segond D., Sicard D. 2020. Interactions between *Kazachstania humilis* yeast species and lactic acid bacteria in sourdough. *Microorganisms*, 8: 2
- Cena H., Calder P. 2020. Defining a Healthy Diet: Evidence for the Role of Contemporary Dietary Patterns in Health and Disease. *Nutrients*, 12, 2: 334
- Chen C., Jing Huang J., Ojobi Omedi J., Huang C., Cheng X., Zhang B., Li N., Gao T., Liang L., Zheng J., Zeng Y., Zhou Z., Weining Huang Z. 2023. Characteristics of the microstructure and the key components of white kidney bean sourdough bread induced by mixed-strain fermentation and its influence on gut microbiota. *Food & Function*, 14: 7413-7425

- Comettant-Rabanal R., Wanderlei Piler Carvalho C., Ramírez Ascheri J. L., Hidalgo Chávez D. W., Germani R. 2021. Extruded whole grain flours and sprout millet as functional ingredients for gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*, 150: 112042
- Detopoulou P., Voulgaridou G., Moschos P., Levidi D., Anastasiou T., Dedes V., Diplari E.-M., Fourfour N., Giaginis C., Panoutsopoulos G.I., Papadopoulou S.K. 2023. Artificial intelligence, nutrition, and ethical issues: A mini-review. *Clinical Nutrition Open Science*, 50: 46–56
- Dopazo V., Navarré A., Calpe J., Riolo M., Moreno A., Meca G., Luz C. 2024. Revalorization of beer brewing waste as an antifungal ingredient for bread biopreservation. *Food Bioscience*, 58: 103588
- Göksu F., Özlü Z., Bölek S. 2024. Rhubarb powder: Potential uses as a functional bread ingredient. *Journal of Food Science*, 89: 2017–2024
- González Jiménez F. E., Romero Luna H. E., Ramirez Avalos S., del Ángel Zumaya J. A., Vivar Vera G., Morales Tapia A. A., Guzmán Gerónimo R. I., Peredo Lovillo A. 2025. Development of low-glycemic white bread using *Oxalis tuberosa* dietary fiber as a functional ingredient. *Applied Food Research*, 5, 1: 100649
- Hernández-Figueroa R. H., Mani-López E., Lopez-Malo A. 2023. Antifungal activity of wheat-flour sourdough (Type II) from two different *Lactobacillus* in vitro and bread. *Applied Food Research*, 3: 100319
- Itatí Ojeda L. G., Genevois C. E., Busch V. M. 2023. Novel flours from *Leguminosae* (*Neltuma ruscifolia*) pods for technological improvement and nutritional enrichment of wheat bread. *Heliyon*, 9: e17774
- Ibrahim U. K., Salleh R. M., Maqsood-ul-Haque, S. N. S. 2015. Bread towards functional food: An overview. *International Journal of Food Engineering*, 1, 39–43
- Jahan E., Husna Nupur A., Majumder S., Das P. C., Aunsary L., Aziz M. G., Islam A., Mazumder A. R. 2023. Physico-chemical, textural and sensory properties of breads enriched with date seed powder. *Food and Humanity*, 1: 165–173
- Jiang Q., Wei X., Liu Q., Zhang T., Chen Q., Yu X., Jiang H. 2024. Rheo-fermentation properties of bread dough with different gluten contents processed by 3D printing. *Food Chemistry*, 433: 137318
- Jönsson M., Gerhardt K., Wendin K. 2025. Historical grains in modern gastronomy: A case study of artisan breads. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 40: 101165
- Kilmanoglu H., Akbas M., Cinar A. Y., Durak M. Z. 2023. Kombucha as alternative microbial consortium for sourdough fermentation: Bread characterization and investigation of shelf life. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 35: 100903
- Kirk, D., Kok, E., Tufano, M., Tekinerdogan, B., Feskens, E. J. M., Camps, G. 2022. Machine Learning in Nutrition Research. *Advances in Nutrition* (Bethesda, Md.), 13, 6: 2573
- Koene R. J., Prizment A. E., Blaes A., Konety S. H. 2016. Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer. *Circulation*, 133, 11: 1104–1114
- Kotsiou K., Palassaros G., Matsakidou A., Mouzakis C.-K., Biliaderis C. G., Lazaridou A. 2023. Roasted-sprouted lentil flour as a novel ingredient for wheat flour substitution in breads. *Food Hydrocolloids*, 145: 109164
- Kovač B., Rijavec Bregar A. 2024. Development of wheat composite bread using barley beta-glucan rich flour. *Potravinárstvo*, 18, 1: 66-76
- Kovač B. 2024. Vpliv prosene moke na reološke lastnosti testa in senzorične lastnosti mešanega pšeničnega kruha. V: Pogorelec, Andrej (ur.) in sod., "Zdravo okolje - naša prihodnost": Konferenca Vivus - 8. mednarodna konferenca s področja kmetijstva in podeželja, naravovarstva, hortikulture in floristike ter živilstva in prehrane: zbornik prispevkov. Strahinj: Biotehniški center Naklo, str. 301-307
- Kovač B., Avbelj M., Polak T., Smole Možina S., Šporin M. 2025. Exploring the impact of olive cake enrichment on wheat flour bread. *LWT - Food Science and Technology*, 215: 117279
- Ma S., Bao Y., Xu M., Yu X., Jiang H. 2024. Effect of 3D printing and traditional molding on phenolic compounds and antioxidant activity in steamed bread. *Food Chemistry*, 454: 139699
- Mansoor R., Mohsin Ali T., Arif S., Saeed M., Hasnain A. 2022. Impact of barley flour addition on dough rheology, glycemic index, textural and sensory characteristics of taftaan flat bread. *Food Chemistry Advances*, 1: 100148
- Martins Z. E., Pinho O., Ferreira I.M. 2017. Food industry by-products used as functional ingredients of bakery products. *Trends Food Science and Technology*, 67:106–128
- Miranda-Ramos K. C., Sanz-Ponce N., Monika Haros C. M. 2019. Evaluation of technological and nutritional quality of bread enriched with amaranth flour. *LWT - Food Science and Technology*, 114: 108418
- Nachtigall C., Fischer J., Plebst R., Rohm H., Jaros D. 2025. Upcycling of minimally processed oat okara: Dietary fibre enrichment of wheat bread. *Journal of Cereal Science*, 122: 104109

- Nionelli L., Wang Y., Pontonio E., Immonen M., Rizzello C. G., Maina H. N., Katina K., Cod R. 2020. Antifungal effect of bioprocessed surplus bread as ingredient for bread-making: Identification of active compounds and impact on shelf-life. *Food Control*, 118: 107437
- Noshirvani N., Abolghasemi Fakhri L. 2025. Advances in extending the microbial shelf-life of bread and bakery products using different technologies: A review. *Food Reviews International*, 41(1), 87–112
- Olugbuyi A. O., Adepeju A. B., Ayodele B. O., Oluwa T. D. 2023. Mature green plantain-amaranth flour inclusion improved wheat bread nutrients. *Food Chemistry Advances*, 3: 100455
- Onyango C., Luvitaa S., Unbehend G., Haase N. 2020. Physico-chemical properties of flour, dough and bread from wheat and hydrothermally-treated finger millet. *Journal of Cereal Science*, 93: 102954
- Özcan M. M. 2022. The effect of ginger (*Zingiber officinale*) powders at different concentrations on bioactive compounds, antioxidant activity, phenolic constituents, nutrients and sensory characteristics of wheat bread. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28: 100532
- Páez E., Hernández-Luna C. E., Longoria-García S., Torres-Alvarez C., Velez-Argumedo C., González-Martínez B. E. 2023. Improving nutritional and functional quality characteristics in bread by using flours obtained from fermentation of kidney beans and oats with *Pleurotus ostreatus*. *CyTA - Journal of Food*, 21, 1: 151–158
- Pandey P., Grover K., Dhillon T. S., Chawla N., Kaur A. 2024. Development and quality evaluation of polyphenols enriched black carrot (*Daucus carota* L.) powder incorporated bread. *Heliyon*, 10: e25109
- Passi P., Kaur K., Kaur J., Kaul S. 2023. Quality characterization, bread making properties and storage stability of foxtail millet incorporated bread ready-mix. *Journal of Stored Products Research*, 104: 102208
- Petrescu D. C., Iris Vermeir I., Petrescu-Mag R. M. 2019. Consumer Understanding of Food Quality, Healthiness, and Environmental Impact: A Cross-National Perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 1: 169
- Perri G., Minisci A., Montemurro M., Pontonio E., Verni M., Rizzello C. G. 2023. Exploitation of sprouted barley grains and flour through sourdough fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 187: 115326
- Phebean Ibidapo O., Olayinka Henshawb F., Akinyemi Shittub T., Akinloye Afolabi W. 2020. Quality evaluation of functional bread developed from wheat, malted millet and okara flour blends. *Scientific African*, 10: e00622
- Pojić M., Dapčević Hadnađev T., Hadnađev M., Rakita S., Brlek T. 2022. Bread Supplementation with Hemp Seed Cake: A By-Product of Hemp Oil Processing. *Journal of Food Quality*, 38, 6: 431–440
- Pontonio E., Lorusso A., Gobetti M., Rizzello C. G. 2017. Use of fermented milling by-products as functional ingredient to develop a low-glycaemic index bread. *Journal of Cereal Science*, 77: 235–242
- Proetto I., Pesce F., Arena E., Grasso A., Parafati L., Fallico B., Palmeri R. 2024. Use of vegetable flours obtained from artichoke by-products in gluten-free bread formulations. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 38: 101015
- Purić M., Rabrenović B., Rac V., Pezo L., Tomašević I., Demin M. 2020. Application of defatted apple seed cakes as a by-product for the enrichment of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 130: 109391
- Resnik Planinc T., Ilc M. 2010. Izobraževanje za lokalno trajnostno oskrbo s hrano. *Dela*, 34, 167-186
- Radešić M. 2019. Vpliv obogatitve pšenične moke z izbranimi dodatki na kinetiko plesnenja kruha. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 25 str.
- Rico D., Alonso de Linaje A., Herrero A., Asensio-Vegas C., Miranda J., Martínez-Villaluenga C., Antonio de Luis D., Belen Martin-Diana A. 2018. Carob by-products and seaweeds for the development of functional bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, 8: e13700
- Rizi Z. A., Sadeghi A., Jafari S. M., Feizi H., Purab H. 2024. Controlled fermented sprouted mung bean containing ginger extract as a novel bakery bio-preservative for clean-label enriched wheat bread. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16: 101218
- Rizzello C. G., Cassone A., Coda R., Gobetti M. 2011. Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chemistry*, 27, 3: 952-959
- Rizzello C. G., Verni M., Bordignon S., Gramaglia V., Gobetti M. 2017. Hydrolysate from a mixture of legume flours with antifungal activity as an ingredient for prolonging the shelf-life of wheat bread. *Food Microbiology*, 64: 72-82
- Singh A., Verma P. 2017. Factors influencing Indian consumers' actual buying behaviour towards organic food products. *Journal of Cleaner Production*, 167: 473–483
- Šoronja-Simović D., Šereš Z., Maravić N. R., Smole Možina S., Zahorec J., Pajin B. 2019. Iskorišćenje sporednih proizvoda industrije šećera u izradi prehrambenih proizvoda u trendu. V: *Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: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*, 59: 1429–1439
- Šporin M., Avbelj M., Kovač B., Smole Možina S. 2017. Quality characteristics of wheat flour dough and bread containing grape pomace flour. *Food Science and Technology International*, 24, 3: 251–263
- Subiria-Cueto R., Reyes-Blas H., Olivas-Armendáriz I., Wall-Medrano A., González-Aguilar G. A., de la Rosa L. A., del Rocío Martínez-Ruiz N., Alvarez-Parrilla E. 2025. Grape pomace and pecan shell fortified bread. *Food Chemistry*, 462
- Thakur P., Kumar K., Singh Dhaliwal H. 2021. Nutritional facts, bio-active components and processing aspects of pseudocereals. *Food Bioscience*, 42: 101170
- Torgbo S., Sukatta U., Kamonpatana P., Sukyai P. 2022. Ohmic heating extraction and characterization of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract with enhanced antioxidant and antifungal activity as a bioactive and functional ingredient in white bread preparation. *Food Chemistry*, 382: 132332
- Vicente A., Marina Villanueva M., Caballero P. A., Lazaridou A., Biliaderis C. G., Ronda F. 2024. Microwave treatment enhances the quality of quinoa-enriched gluten-free bread. *Food Hydrocolloids*, 155: 110244
- Vidaurre-Ruiz J., Bender D., Schonlechner R. 2023. Promoting pseudocereals as novel high protein grains. *Journal of Cereal Science*, 114: 103795
- Wang X., Lao X., Bao Y., Guan X., Li C. 2021. Effect of whole quinoa flour substitution on wheat bread texture and starch digestibility. *Food Hydrocolloids*, 119: 106840
- Wirkijowska A., Zarzycki P., Sobota A., Nawrocka A., Blicharz-Kania A., Andrejko D. 2020. Using by-products from the flaxseed industry for functional bread production. *LWT - Food Science and Technology*, 118: 108860
- Wronkowska M., Zieliński H., Bączek N., Honke J., Topolska J. 2024. Retention of bioactive compounds during bread production with roasted buckwheat hulls. *Food Chemistry*, 460: 140645
- Xin T., Tang S., Su T., Huang Z., Huang F., Zhang R., Dong L., Deng M., Shen Y., Su D. 2022. Replacing wheat flour with lychee juice by-products. *LWT - Food Science and Technology*, 165: 113696
- Yeşil S., Levent H. 2022. Fermented buckwheat, quinoa and amaranth flour in gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*, 160: 113301
- Yuan J., Ma D., Yang Y., Zhao Y., Ren H., Liu X., Tan M., Li, K. 2025. A review and prospects: Multi-omics and artificial intelligence-based approaches to understanding the effects of lactic acid bacteria and yeast interactions on fermented foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 99: 103874
- Zahorec J., Šoronja Simović D., Petrović J., Šereš Z., Pavlič B., Sterniša M., Smole Možina S., Ačkar Đ., Šubarić D., Jozinović A. 2024a. The effect of carob extract on antioxidant, antimicrobial and sensory properties of bread. *Applied Sciences*, 14, 9: 3603
- Zahorec J., Šoronja Simović D., Petrović J., Šereš Z., Sterniša M., Jozinović A., Šubarić D., Ačkar Đ., Babić J., Smole Možina S. 2024b. Application of plant ingredients for improving sustainability of fresh pasta. *Sustainability*. 16, 1: 209
- Zatsu V., Shine A. E., Tharakan J. M., Peter D., Vasudevan Ranganathan T., Alotaibi S. S., Mugabi R., Bin Muhsinah A., Waseem M., Nayik G. A. 2024. Revolutionizing the food industry: The transformative power of artificial intelligence-a review. *Food Chemistry: X*, 24: 101867
- Zhang G., Chatzifragkou A., Charalampopoulos D., Rodriguez-Garcia J. 2023. Effect of defatted melon seed residue on bread quality. *LWT - Food Science and Technology*, 183: 114892
- Zhao Y., Li T., Zhao J., AL-Ansi W., Fan M., K. Wafaa K. A., Qian H., Li Y., Wang L. 2025. Effects of sea buckthorn residue protein hydrolysate on frozen pre-baked bread. *Food Hydrocolloids*, 167: 111404

VLOGA SISTEMA ORGANIZACIJE ŠOLSKE PREHRANE PRI OBLIKOVANJU BOLJ TRAJNOSTNIH PREHRANSKIH NAVAD OTROK

Anja BOLHA¹, Blaž FERJANČIČ², Jasna BERTONCELJ³, Aleš KUCHAR⁴ in Mojca KOROŠEC⁵

Povzetek: Trajnostno prehranjevanje postaja ključno pri preoblikovanju prehranskih sistemov. Slovenija z razvitim sistemom organizirane prehrane v vzgojno-izobraževalnih zavodih (VIZ) dnevno nahrani več kot 360.000 otrok in mladostnikov, kar predstavlja pomemben potencial za oblikovanje njihovih prehranskih navad. Ta prispevek analizira dejavnike in intervencije na mikro, mezo in makro ravni, ki vplivajo na trajnostne prehranske navade otrok v slovenskem sistemu VIZ. Analiza združuje znanstveno literaturo in izsledke nacionalne raziskave ter pilotnega spremljanja všečnosti obrokov v okviru projekta CRP "Šolski krožnik, dober zame in za planet". Medtem ko mikro raven postavlja temelje prehranskih navad, šolsko okolje te navade utrjuje in ponuja priložnosti za spoznavanje trajnostnih praks. Organizacija šolske prehrane, vključno z jedilniki, pripravo hrane in kulturo prehranjevanja, ključno vpliva na otrokove izbire. Nacionalna raziskava med organizatorji prehrane kaže, da implementacija trajnostnih načel prinaša izzive.. Šole se soočajo z infrastrukturnimi omejitvami (majhne kuhinje in skladišča) ter zastarelo opremo. Pomanjkanje kadra in nejasni normativi dodatno otežujejo kakovostno pripravo in postrežbo obrokov, kar negativno vpliva na sprejemanje hrane in povečuje količino odpadkov. Uvajanje trajnostnih jedi, zlasti z več zelenjave in stročnic, pogosto naleti na odpor otrok, kar potrjujejo podatki o največji količini zavržene hrane pri zelenjavnih prilogah, juhah in stročnicah. Dobra sprejemljivost solat nakazuje preferenco do sveže zelenjave. Organizatorji prehrane zato izpostavljajo ključno vlogo priprave okusnih, hranljivih in otrokom priljubljenih jedi, vključno z okusnimi rastlinskimi alternativami ter aktivno iščejo strategije za izboljšanje sprejemljivosti manj priljubljenih jedi. Ne glede na te izzive pa je jasno, da lahko šole svoj potencial za učinkovito spodbujanje trajnostne prehrane v celoti uresničujejo le z ustrezno sistemsko podporo, odpravljanjem prepoznanih ovir in s tesnim sodelovanjem vseh treh ravni.

Ključne besede: trajnostna prehrana, prehranske navade, vzgojno-izobraževalni zavodi, otroci, več nivojski pristop

THE ROLE OF THE SCHOOL NUTRITION SYSTEM IN DEVELOPING MORE SUSTAINABLE DIETARY HABITS IN CHILDREN

Abstract: Sustainable nutrition is becoming crucial in the transformation of food systems. Slovenia, with its well-developed system of organized nutrition in educational institutions, provides daily meals to over 360,000 children and adolescents, representing a significant potential for shaping their dietary habits. This paper analyses the factors and interventions at the micro, meso, and macro levels that influence the sustainable dietary habits of children within the Slovenian educational system. The analysis combines scientific literature and the findings of a national survey, as well as the preliminary results of a pilot study on meal palatability within the framework of the CRP project "School Plate, Good for Me and the Planet." While the micro level lays the foundation for dietary habits, the school environment reinforces these habits and offers opportunities to learn about sustainable practices. The organization of school meals, including menus, food preparation, and eating culture, significantly influences children's choices. However, the implementation of sustainable principles presents challenges, as indicated by the national survey among food organizers. Schools face infrastructural limitations (small kitchens and storage spaces) and outdated equipment. Staff shortages and unclear regulations further complicate the provision of quality meal preparation and service, negatively impacting food acceptance and increasing waste. The introduction of sustainable dishes, especially those with more vegetables and legumes, often meets with resistance from children, as confirmed by data on the largest amount of food waste being vegetable side dishes, soups, and legumes. The good acceptance of salads suggests a preference for fresh vegetables. Diet organizers therefore emphasize the crucial role of preparing tasty, nutritious, and child-friendly meals, including delicious plant-based alternatives, and are actively seeking strategies to improve the acceptance of less popular dishes and thereby reduce waste. Regardless of these challenges, it is clear that schools can fully realize their potential for effectively promoting sustainable eating only with adequate systemic support, the elimination of identified obstacles, and close cooperation at all three levels.

Keywords: sustainable nutrition, dietary habits, educational institutions, children, multi-level approach

¹ mag. inž. preh., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: anja.bolha@bf.uni-lj.si

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

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Ljubljana, e-mail: jasna.bertoncelj@bf.uni-lj.si

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

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

1 UVOD

Trajnostni način prehranjevanja, ki naslavlja kompleksno prepletenost zdravja ljudi in okoljske vzdržnosti, postaja osrednja paradigma v globalnih prizadevanjih za preoblikovanje prehranskih sistemov. Organizacija ZN za prehrano in kmetijstvo (FAO) jo opredeljuje kot prehrano z majhnimi okoljskimi vplivi, ki prispeva k prehranski varnosti ter zdravemu življenju sedanjih in prihodnjih generacij. Hkrati ščiti biotsko raznovrstnost in ekosisteme, je kulturno sprejemljiva, dostopna, ekonomsko pravična ter prehransko ustrezna, varna in zdrava (FAO in WHO, 2019). V praksi to pomeni prehod k prehranskim vzorcem, ki dajejo prednost živilom rastlinskega izvora, vključujejo lokalne, sezonske in ekološko pridelane surovine, minimizirajo uporabo visoko predelanih živil ter zmanjšujejo količino odpadne hrane in porabo virov (Willett in sod., 2019; Von Koerber in sod., 2017). Javne institucije, zlasti vzgojno-izobraževalni zavodi (vrtec, osnovne in srednje šole; v nadaljevanju VIZ), imajo zaradi svojega obsega in vpliva edinstveno priložnost ter odgovornost za spodbujanje teh načel in oblikovanje prehranskih navad prihodnjih generacij.

Slovenija se uvršča med države z visoko razvitim sistemom organizirane prehrane v VIZ, ki dnevno zagotavlja obroke za več kot 360.000 otrok in mladostnikov (SURS, 2024). Ta obsežen sistem pomembno vpliva na prehranske vzorce mladih. Nedavno sprejete Smernice za prehranjevanje v VIZ (MVI, 2024), ki prvič eksplicitno vključujejo načela trajnosti, predstavljajo ključen korak k sistemskemu vključevanju okoljskih in socialnih vidikov prehrane v VIZ. Pomen trajnostnega pristopa k šolskim obrokom je prepoznan tudi na mednarodni ravni; globalna Koalicija za šolsko prehrano (School Meals Coalition), katere članica je tudi Slovenija, poudarja nujnost preoblikovanja šolske prehrane za doseganje koristi tako za otroke kot za planet. Ključni ukrepi vključujejo oblikovanje hranljivih in trajnostnih jedilnikov, uporabo čiste energije, zmanjševanje odpadkov ter integracijo prehranskega izobraževanja (Pastorino in sod., 2023).

Kljub prepoznavanju pomena sistemskih ukrepov, kot so nacionalne smernice in politike javnega naročanja, je oblikovanje dolgoročnih prehranskih navad kompleksen proces, na katerega vplivajo dejavniki na različnih ravneh. Za celovito razumevanje vloge sistema prehrane v VIZ pri spodbujanju trajnostnih prehranskih praks je zato nujen večnivojski pristop, ki upošteva medsebojno delovanje:

- mikro ravni – individualnih značilnosti otroka (npr. senzorične preference, neofobija) in vplivov najožjega socialnega okolja, predvsem družine in staršev;
- mezo ravni – neposrednega šolskega okolja, vključno z organizacijo in izvedbo prehrane, prostorskimi in kadrovskimi zmožnostmi kuhinje, vlogami ključnih akterjev (organizatorji, kuharsko osebje, učitelji, vodstvo šole) ter dinamiko sprejemanja obrokov s strani učencev;
- makro ravni – širšega družbeno-političnega konteksta, ki ga oblikujejo nacionalne politike, prehranske smernice, zakonodaja, ekonomske razmere in kulturne norme.

Cilj tega prispevka je analizirati, kako dejavniki in intervencije na mikro, mezo in makro ravni soustvarjajo pogoje za oblikovanje trajnostnih prehranskih navad otrok znotraj slovenskega sistema prehrane v VIZ. Analiza temelji na sintezi relevantne znanstvene literature ter predstavitvi ključnih izsledkov nacionalne raziskave in preliminarne rezultate pilotnega spremljanja všečnosti obrokov, izvedenih v okviru Ciljnega raziskovalnega projekta "Šolski krožnik, dober zame in za planet" (CRP V4-2307), ki ga podpirata Javna Agencija za znanstveno-inovacijsko dejavnost Slovenije (ARIS) in Ministrstvo za zdravje (MZ), pod okriljem programa Dober tek, Slovenija.

2 MIKRO RAVEN: OTROK IN DRUŽINA

Prehranske navade, ki se začnejo oblikovati že v zgodnjem otroštvu, imajo dolgoročne posledice ne le za posameznikovo zdravje in dobro počutje, temveč tudi za njegov okoljski odtis skozi življenje (Birch in Fisher, 1998). Otroštvo predstavlja kritično obdobje za razvoj prehranskih preferenc in sprejemanje raznolike hrane, vendar je to tudi čas izzivov, kot sta zavračanje novih ali manj priljubljenih živil. Razumevanje kompleksne interakcije med otrokovimi notranjimi predispozicijami in zunanji vplivi, zlasti družinskim okoljem, je ključno za razvoj učinkovitih strategij spodbujanja zdravih in trajnostnih prehranskih vzorcev.

2.1 NOTRANJI DEJAVNIKI: SENZORIČNE PREFERENCE IN PREHRANSKA NEOFOBIA

Otrokovo prehransko vedenje je neločljivo povezano z njegovimi notranjimi dejavniki, med katerimi izstopajo senzorične preference, prehranska neofobija in temperament (Blissett in Fogel, 2013). Otroci se rodijo z določenimi prirojenimi senzoričnimi preferencami, zlasti do sladkega okusa, kar je evolucijsko gledano smiselno za prepoznavanje varnih in energijsko bogatih virov hrane (Beauchamp in Mennella, 2011). Hkrati pogosto kažejo averzijo do grenkih in kislih okusov, kar je lahko evolucijski mehanizem za izogibanje toksinom, vendar v sodobnem okolju predstavlja oviro pri sprejemanju številnih vrst zelenjave in drugih hranljivih rastlinskih živil, ki so temelj trajnostne prehrane (Mennella in sod., 2016). Raziskave kažejo, da se občutljivost na osnovne okuse spreminja z odraščanjem (Vennerød in sod., 2018), kar odpira okno priložnosti za učenje in prilagajanje preferenc.

Tudi tekstura hrane igra ključno vlogo; averzija do trdih, grudastih ali zrnatih tekstur lahko omeji sprejemanje polnozrnatih žit, stročnic ali določene zelenjave, čeprav na to lahko vplivajo tudi individualne in kulturne razlike (Werthmann in sod., 2015; Laureati in sod., 2020). Otroci s povečano senzorično občutljivostjo in višjo stopnjo prehranske neofobije so pogosto bolj zadržani do novih tekstur in okusov; tisti, ki preferirajo mehkejša različica hrane brez delcev, so bolj neofobični in senzorično občutljivi (Cappelletto in Olsen, 2021). Pomembno je poudariti, da se preference podedujejo in tudi intenzivno učijo prek zgodnjih izkušenj, vključno z izpostavljenostjo okusom preko materine prehrane med nosečnostjo in dojenjem (Mennella in sod., 2001; Ustun-Elayan in sod., 2025).

Drug pomemben notranji dejavnik je prehranska neofobija, definirana kot odpor ali strah pred poskušanjem novih živil, ki je pogost pojav v zgodnjem otroštvu in doseže vrhunec med drugim in šestim letom starosti (Pliner in Hobden, 1992). Razlikuje se od splošne izbirčnosti (ang. "picky eating"), kjer otrok zavrača tako nova kot že poznana živila (Dovey in sod., 2008). Oba pojava lahko znatno omejita raznolikost otrokove prehrane, še posebej vnos sadja, zelenjave in drugih rastlinskih živil, ki so ključna za trajnostno prehrano (Johnson in sod., 2015; Bialek-Dratwa in sod., 2022). Dejavniki, ki vplivajo na pojav neofobije in izbirčnosti, so genetika, senzorična občutljivost, anksioznost, kot tudi kakovost ponujene prehrane in odnos staršev do hrane in hranjenja (Torres in sod., 2020; Cappelletto in Olsen, 2021). Premagovanje teh izzivov zahteva strategije, ki temeljijo na pozitivnih izkušnjah s hrano. Ključna je ponavljajoča se izpostavljenost novim živilom (optimalno 8-15 krat), predstavljenih v nevtralnem, sproščenem okolju, brez pritiska ali prisile (Cooke, 2007). Učenje prek zgleda (opazovanje staršev ali vrstnikov, ki uživajo v hrani) in povezovanje novih okusov z že priljubljenimi sta prav tako učinkoviti strategiji (Maier in sod., 2007).

2.2 ZUNANJI DEJAVNIKI: VPLIV DRUŽINE IN ŠIRŠEGA OKOLJA

Čeprav so notranji dejavniki pomembni, ima ključno vlogo pri oblikovanju otrokovih prehranskih navad tudi okolje, v katerem otrok odrasča. Družina predstavlja primarno okolje za učenje o hrani in prehranjevanju, starši pa vplivajo na otroke preko več medsebojno povezanih mehanizmov (Scaglioni in sod., 2018; Ventura in Birch, 2008). Ključnega pomena je osebni zgled, saj prehranske navade staršev močno napovedujejo navade njihovih otrok. Starši, ki sami uživajo raznoliko prehrano, bogato s sadjem, zelenjavo in drugimi trajnostnimi živil, bodo bolj verjetno vzgojili otroke s podobnimi navadami. Pomembna je tudi dostopnost in razpoložljivost hrane; živila, ki so ves čas na voljo in dostopna doma, otroci pogosteje uživajo. Če so doma redno prisotni sadje, zelenjava, stročnice in polnozrnat živila, se poveča verjetnost, da jih bodo otroci tudi sprejeli v svojo prehrano (Cullen in sod., 2003; Nekitsing in sod., 2018). Velik vpliv ima tudi odnos staršev do hrane in hranjenja. Raziskave razlikujejo med odzivnim hranjenjem, ki temelji na prepoznavanju otrokovih signalov lakote in sitosti ter spodbujanju avtonomije in nadzorujočimi praksami, kot so pritisk k hranjenju ("pojesti moraš vse"), omejevanje določenih živil ali uporaba hrane kot nagrade/kazni. Slednje pogosto dosežejo nasproten učinek, saj lahko zmanjšajo otrokovo notranjo motivacijo za uživanje zdrave hrane in poslabšajo njegovo sposobnost samoregulacije vnosa hrane (Hughes in sod., 2011; Birch in sod., 2003); spodbujanje k poskušanju novih živil mora biti zato subtilno in brez pritiska. Nenazadnje so pomembni tudi redni skupni družinski obroki, ki so povezani s kakovostnejšo prehrano otrok in mladostnikov, vključno z večjim vnosom sadja in zelenjave.

(Hammons in Fiese, 2011), saj predstavljajo priložnost za socialno interakcijo, prenos prehranskih vrednot in pozitiven zgled.

Kot poudarjata Godin in Langlois (2021), so vsakodnevne prakse, vključno s prehranskimi, globoko vpete v družbene strukture, rutine in pričakovanja. Prehod na bolj trajnostne prehranske prakse, kot so več kuhanja iz osnovnih sestavin, nakupovanje lokalnih ali ekoloških živil ter zmanjševanje zavržkov, lahko ovirajo številni dejavniki. Mednje sodijo časovne omejitve, saj hiter tempo življenja in usklajevanje poklicnih ter družinskih obveznosti pogosto vodita k izbiri hitrejših, a manj trajnostnih rešitev. Ekonomski dejavniki so prav tako pomembni, saj je cena trajnostnih živil lahko višja, kar predstavlja oviro za gospodinjstva z nižjimi dohodki. Ne smemo zanemariti družbenih norm in pričakovanj, saj lahko prevladujoči prehranski vzorci in pričakovanja okolice otežujejo odstopanje od "norme". Dodatno oviro lahko predstavljajo neenakosti med spoloma, saj je skrb za prehrano in pripravo hrane še vedno nesorazmerno na plečih žensk, kar lahko vpliva na njihovo zmožnost in motivacijo za uvajanje zahtevnejših trajnostnih praks (Godin in Langlois, 2021).

Poleg družine na prehranske izbire otrok, zlasti starejših, vplivajo tudi vrstniki (Salvy in sod., 2012) in izpostavljenost trženju hrane, še posebej zdravju manj koristnih živil (Boyland in sod., 2022). Ti vplivi lahko delujejo zaviralno pri oblikovanju zdravih in trajnostnih navad.

2.3 RECIPROČNA SOCIALIZACIJA – OTROCI KOT POBUDNIKI SPREMEMB

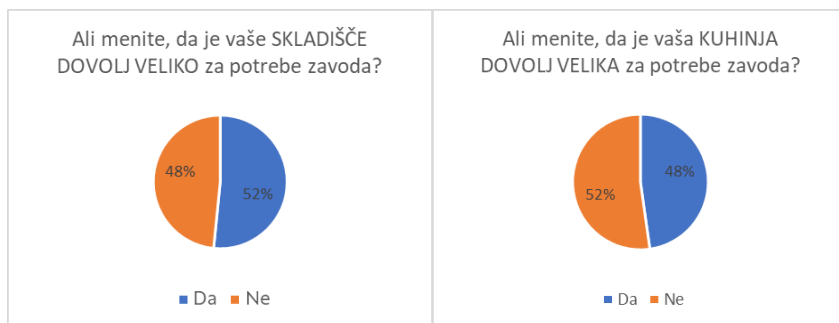
Tradicionalno velja, da starši primarno oblikujejo navade otrok, vendar ne smemo zanemariti obratnega procesa – recipročne socializacije, kjer otroci s svojimi preferencami, znanjem in vrednotami vplivajo na prehranske odločitve celotne družine (Gentina in Muratore, 2012). Otroci lahko iz šole prinesejo znanje o zdravi prehrani, trajnosti ali nove recepte ter spodbudijo starše k spremembam. Raziskave kažejo, da lahko otrokove odločitve, kot je prehod na vegetarijanstvo ali želja po vključitvi določenih živil (npr. stročnic), vodijo do prilagoditev prehrane celotne družine (Pater in sod., 2025; Hasselberg in sod., 2024). Otroci tako postanejo pomembni akterji sprememb, kar odpira možnosti za spodbujanje trajnostnih praks "od spodaj navzgor", pri čemer šolski program pomembno vzpodbuja otroke k potrebnemu znanju in motivaciji.

3 MEZO RAVEN: ŠOLSKO OKOLJE

Mikro raven postavlja temelje prehranskih navad, šolsko okolje pa predstavlja ključni prostor, kjer se te navade utrjujejo, preoblikujejo in kjer imajo otroci priložnost sistematično spoznavati nove, bolj trajnostne prehranske prakse. V Sloveniji, kjer Zakon o šolski prehrani (Uradni list RS, št. 3/13 s spr.) nalaga šolam obvezno organizacijo malice in kosila za vse učence, ta mezo raven pridobi še poseben pomen. Šole niso le prostor za izobraževanje, ampak tudi kompleksni prehranski sistemi (Bryant in sod., 2023), kjer dnevno poteka priprava in razdeljevanje velikega števila obrokov. Organizacija šolske prehrane, vključno z jedilniki, načinom priprave hrane, kulturo prehranjevanja in odnosom osebja, pomembno vpliva na prehranske izbire in sprejemanje novih živil s strani otrok (Kokkorou, 2024). Implementacija trajnostnih načel v ta sistem pa prinaša specifične izzive in priložnosti, kar potrjujejo tudi izsledki naše nacionalne raziskave med organizatorji prehrane v slovenskih osnovnih šolah, izvedene v okviru projekta Šolski krožnik (CRP V4-2307) na reprezentativnem vzorcu 152 šol (33 % vseh matičnih šol).

3.1 KOMPLEKSNOŠT ŠOLSKEGA PREHRANSKEGA SISTEMA: AKTERJI, VIRI IN OMEJITVE

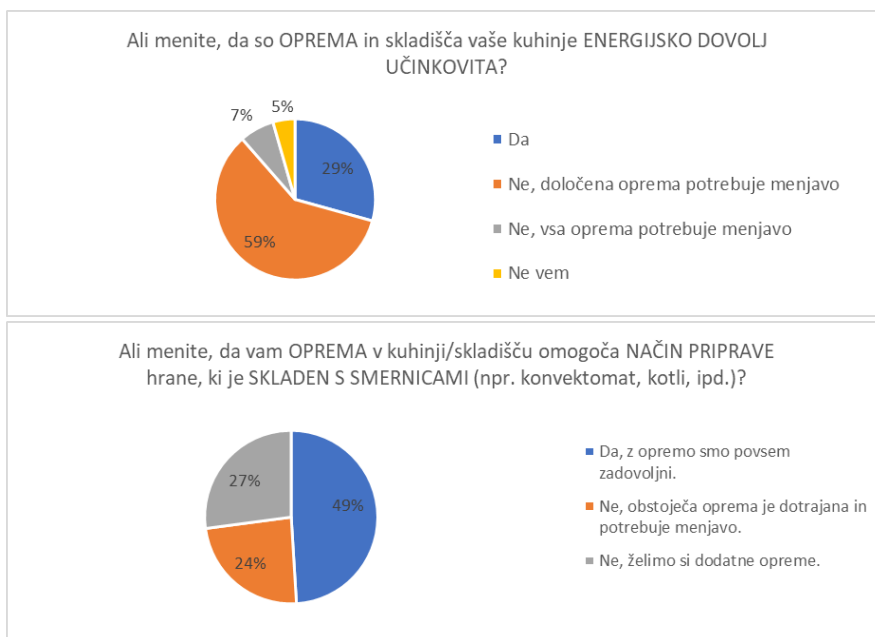
Uspešnost prehoda k bolj trajnostni šolski prehrani je odvisna od usklajenega delovanja različnih akterjev in razpoložljivih virov znotraj šole. Bryant in sod. (2023) v svoji sistemski analizi dejavnikov, ki vplivajo na prehranske izbire otrok v šolah, poudarjajo ključno vlogo vodstva šole, njihovih prioritet in zavedanja problematike, razpoložljivih virov (finančnih, kadrovskih, prostorskih), kurikuluma in šolske kulture.



Slika 1: Zadovoljstvo z velikostjo kuhinje in skladišča (N=152).

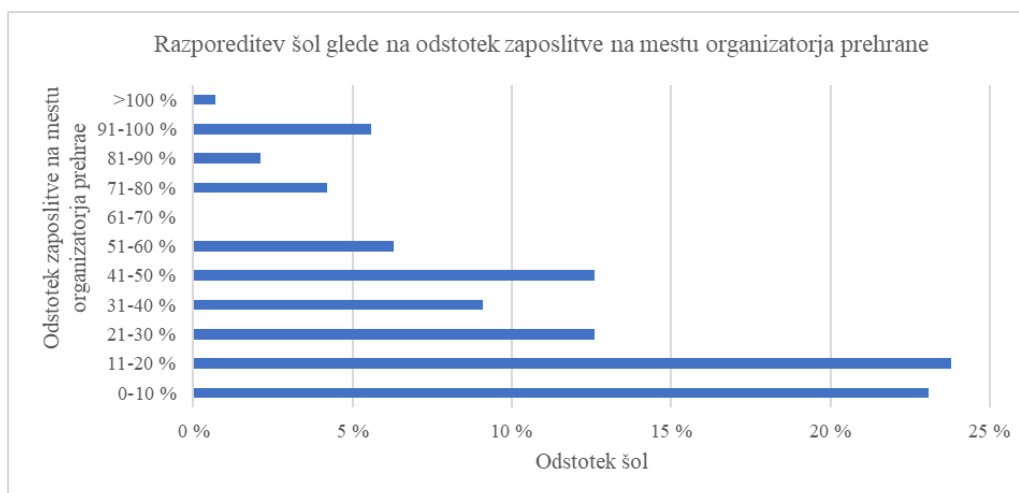
Podatki iz naše raziskave kažejo, da se slovenske šole soočajo s konkretnimi materialnimi izzivi. Mednje sodijo infrastrukturne omejitve, saj je zadovoljstvo z velikostjo kuhinje in skladiščnih prostorov deljeno; skoraj polovica (48 %) anketiranih organizatorjev meni, da so ti prostori premajhni za potrebe zavoda (Slika 1). To lahko otežuje shranjevanje svežih, lokalnih surovin ali pripravo kompleksnejših jedi iz osnovnih sestavin.

Še večji izziv predstavlja zastarela oprema. Le 29 % organizatorjev meni, da je oprema energijsko učinkovita, medtem ko jih velika večina (66 %) poroča, da bi bila potrebna vsaj delna menjava (Slika 2). Čeprav približno polovica (49 %) meni, da jim obstoječa oprema omogoča pripravo hrane v skladu z novimi Smernicami (MVI, 2024), pa več kot polovica (51 %) poroča o dotrajanosti ali pomanjkanju opreme, ki jih omejuje pri delu. Pomanjkanje sodobne opreme, kot so konvektomati, lahko neposredno ovira pripravo bolj zdravih in trajnostnih obrokov.



Slika 1: Ocena energijske učinkovitosti in ustreznosti opreme v kuhinji in skladišču (N=152).

Poleg materialnih virov so ključni človeški viri. V središču sistema je organizator prehrane, njegova vloga je usklajevanje prehranskih smernic, želje učencev, ekonomskih in okoljskih meril ter zmožnosti kuhinje. Rezultati naše ankete kažejo, da so organizatorji v slovenskih šolah pogosto zaposleni le za krajši delovni čas (47 % za manj kot 20 %, od tega 23 % za 10 % ali manj) (Slika 3), kar lahko omejuje njihovo zmožnost poglobljenega načrtovanja in izvajanja trajnostnih praks.



Slika 3: Razporeditev šol glede na odstotek zaposlitve na mestu organizatorja prehrane (N=152).

Podatki kažejo tudi na relativno visoko stopnjo menjave kadra, saj ima skoraj polovica (49 %) organizatorjev manj kot 5 let izkušenj na tem delovnem mestu, 17 % pa celo manj kot 2 leti. To na eni strani pomeni potencialno izgubo znanja, na drugi pa priložnost za uvajanje novih praks ob nujnosti stalnega usposabljanja.

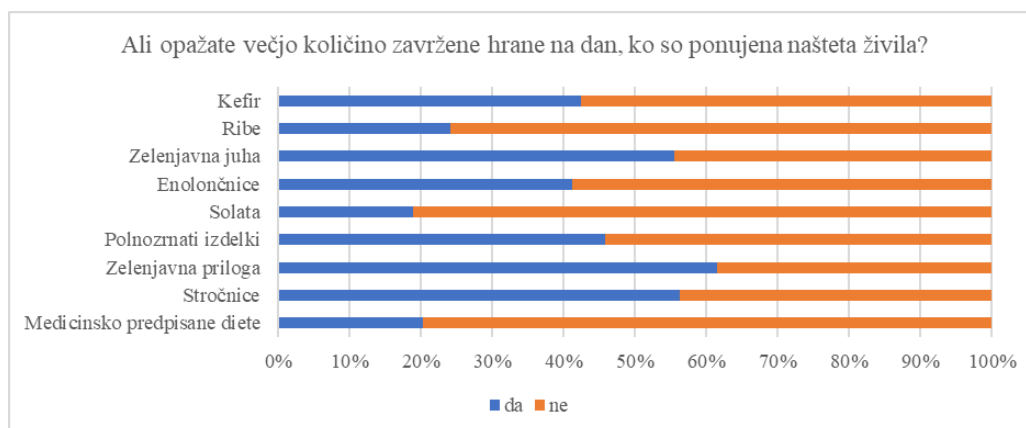
Nepogrešljivi so tudi kuharji in kuhinjsko osebje. Sabet in sod., (2025) poudarjajo pomen prehoda na pripravo hrane iz svežih sestavin in opolnomočenja kuharskega osebja. Naša preliminarna opazovanja s terena v okviru projekta Šolski krožnik kažejo, da se šole soočajo s pomanjkanjem kuharskega kadra in nejasnimi normativi. Preobremenjenost in bolniške odsotnosti lahko vodijo v okrnjene obroke, slabšo kakovost ali manj privlačno postrežbo, kar negativno vpliva na sprejemanje hrane s strani otrok in posledično povečuje količino odpadne hrane.

Učitelji in pedagoško osebje prav tako igrajo pomembno vlogo pri oblikovanju prehranjevalne kulture. Čas kosila je tudi vzgojna priložnost, zlasti za učenje o zdravi prehrani in problematiki odpadne hrane. Njihov zgled, spodbujanje k poskušanju novih jedi in vodenje pogovorov o hrani lahko bistveno pripomorejo k pozitivnemu odnosu otrok do bolj trajnostnih izbir (Waling in Larsson, 2017).

3.2 NAČRTOVANJE JEDILNIKOV: MED POPULARNOSTJO, TRAJNOSTJO IN ODPADNO HRANO

Oblikovanje jedilnikov v šolskih kuhinjah je kompleksen proces, kjer se prepletajo različni, včasih nasprotujoči si cilji: zagotavljanje hranilne vrednosti, skladnosti s smernicami, obvladovanje stroškov, okoljska trajnost, sprejemljivost s strani otrok in minimiziranje odpadne hrane (Sudin in sod., 2023).

Nove slovenske Smernice (MVI, 2024) dajejo jasen signal k večji trajnosti, s poudarkom na vpeljavi rastlinskih virov beljakovin, ter na lokalnih, sezonskih in ekoloških živilih. Uvajanje bolj trajnostnih jedi, zlasti tistih na osnovi stročnic ali z več zelenjave, pogosto naleti na odpor otrok, kar lahko vodi v povečano količino odpadne hrane. To potrjujejo tudi naši podatki iz projekta Šolski krožnik, kjer organizatorji poročajo o največji količini odpadne hrane prav pri zelenjavnih prilogah (65 % odstotkov šol), zelenjavnih juhah (58 %) in stročnicah (58 %) (Slika 4). To kaže na globoko zakoreninjene preference in potencialno neofobijo do teh skupin živil med slovenskimi šolarji. Manjši izziv predstavljajo polnozrnatni izdelki, kefir in enolončnice (42-46 % šol opaža več odpadkov). Zanimivo je, da večina ne opaža povečane količine odpadne hrane pri solatah in ribah (77-80 %). Dobra sprejemljivost solat, ki jo potrjujejo tudi terenske ugotovitve, morda kaže na preferenco do sveže zelenjave ali pa na utečenost solate kot stalnice slovenskega kosila, medtem ko bi majhna količina odpadne hrane pri ribah lahko bila posledica uporabe bolj predelanih oblik ali redkejšega ponujanja.



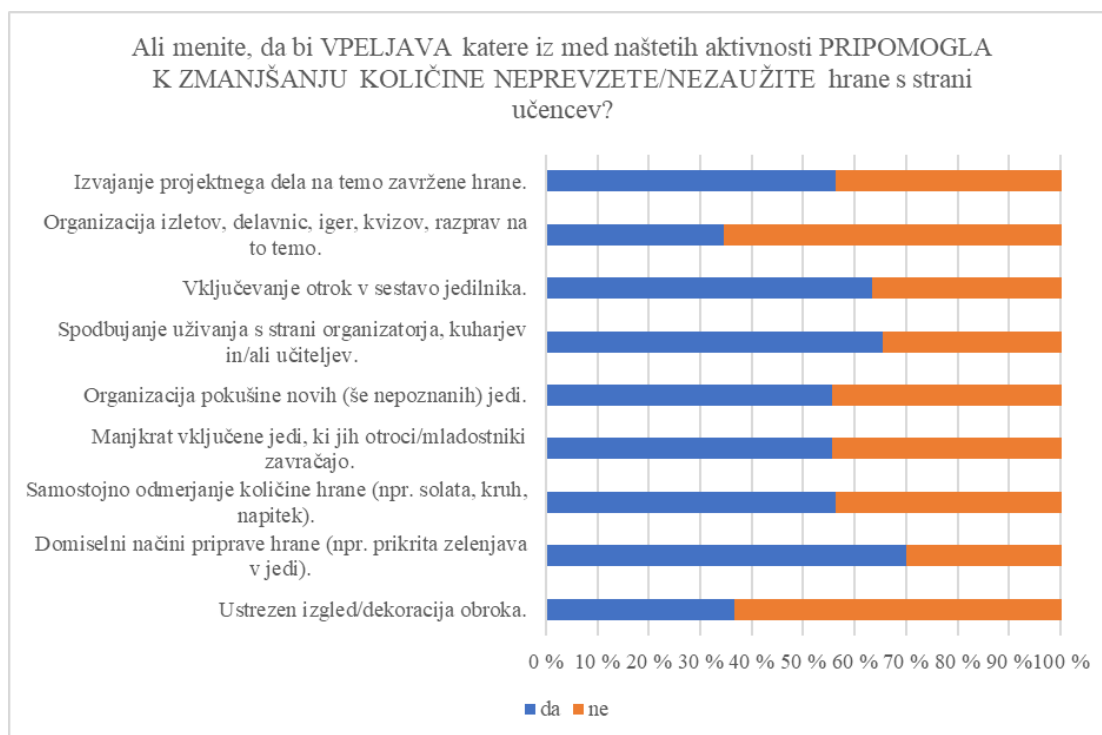
Slika 4: Živila, pri katerih organizatorji prehrane opažajo večje količine odpadne hrane kot običajno (N=152).

Podobno kot nakazujejo preliminarni rezultati pilotne raziskave všečnosti obrokov na terenu v okviru projekta Šolski krožnik, tudi Sudin in sod. (2023) razbijajo mit, da so vegetarijanske jedi glavni krivec za odpadno hrano. Ugotovili so, da so bolj priljubljene jedi, mesne ali vegetarijanske, povezane z manjšo količino odpadkov. Osredotočiti se je potrebno na pripravo okusnih, hranljivih in priljubljenih obrokov, vključno s priljubljenimi brezmesnimi obroki.

3.3 STRATEGIJE ZA SPODBUJANJE TRAJNOSTNIH IZBIR IN ZMANJŠEVANJE ODPADKOV

Rezultati naše ankete kažejo, da organizatorji prehrane v slovenskih šolah prepoznajo več ključnih strategij za izboljšanje sprejemljivosti manj priljubljenih jedi in zmanjšanje odpadkov (Slika 5). Največjo podporo imajo domiselni načini priprave hrane (73 %), kot je "prikrivanje" zelenjave, kar neposredno naslavlja problem zavračanja zelenjavnih jedi. Visoko podporo imata tudi omogočanje samostojnega odmerjanja pri določenih komponentah (68 %) in vključevanje otrok v sestavo jedilnika (68 %), saj ti ukrepi dajejo otrokom občutek nadzora in samostojnosti.

Spodbujanje s strani osebja (organizatorji, kuharji, učitelji) je prav tako prepoznano kot zelo pomembno (68 %), kar poudarja vlogo socialnega okolja v jedilnici. Zanimivo je, da več kot polovica (58 %) podpira tudi manj pogosto vključevanje jedi, ki jih otroci zavračajo. Čeprav je to razumljivo z vidika kratkoročnega zmanjšanja odpadkov, je lahko v nasprotju z dolgoročnim ciljem širjenja sprejemljivosti prek ponavljajoče izpostavljenosti (Cooke, 2007). To kaže na pragmatizem organizatorjev, ki lovijo ravnotežje med vzgojnimi cilji in realnostjo vsakodnevnega delovanja. Podobno dilemo predstavlja omogočanje izbire le določenih komponent obroka – zmanjša odpadke, hkrati pa tudi priložnost za poskušanje novih kombinacij in potencialno vodi v prehransko nepopolne obroke.



Slika 5: Aktivnosti, ki bi po mnenju organizatorjev prehrane pripomogle k zmanjšanju količine neprevzete/nezaužite hrane s strani učencev (N=152).

Izobraževalne aktivnosti, kot so projektno delo na temo zavržene hrane (60 %) ali organizacija delavnic in kvizov (38 %), imajo nekoliko manjšo podporo v primerjavi s praktičnimi ukrepi med samim obrokom. Kljub temu pa primeri dobre prakse (merjenje odpadkov, javna predstavitev količin odpadne hrane v jedilnici, ipd.), kažejo na potencial kombiniranja praktičnih ukrepov z ozaveščanjem, kar lahko prinese merljive rezultate pri zmanjševanju odpadkov. Ugotovitve raziskave so skladne z mednarodnimi priporočili in poudarjajo pomen večkomponentnih pristopov (Kokkorou, 2024), ki združujejo izboljšave pri pripravi in postrežbi (senzorično-hedonistične strategije), prilagoditve okolja (spodbude) ter aktivno prehransko vzgojo in vključevanje otrok.

4 MAKRO RAVEN: VPLIV POLITIK, ZAKONODAJE IN DRUŽBENEGA OKOLJA

Medtem ko se prehranske navade oblikujejo na mikro ravni (otrok, družina) in odražajo v specifičnem okolju šole (mezo raven), so te ravni močno vpete v širši (makro) kontekst. Nacionalne politike, zakonodaja, ekonomske razmere, kulturne norme in delovanje prehranskega sistema kot celote postavljajo okvir, znotraj katerega delujejo šole in družine, ki bodisi spodbuja bodisi zavira prehod k bolj trajnostnim prehranskim praksam.

4.1 JAVNO NAROČANJE V PODPORO TRAJNOSTNIM SPREMEMBAM

Eden ključnih vzvodov na makro ravni je javno naročanje hrane za javne zavode, vključno z VIZ, ki predstavlja ogromen ekonomski potencial za usmerjanje prehranskega sistema k večji trajnosti. Glede na to, da v EU javna naročila predstavljajo približno 14 % bruto družbenega proizvoda (Caldeira in sod., 2017), lahko vključevanje trajnostnih meril v te postopke pomembno vpliva na proizvodne in potrošniške vzorce. V Sloveniji področje ureja Zakon o javnem naročanju (ZJN-3, Uradni list RS, št. 91/15 s spr. 121/21), ki povzema Direktivo o javnem naročanju (Direktiva o JN 2017/24). Ključnega pomena je Uredba o zelenem javnem naročanju (Uredba o ZeJN, Uradni list RS, št. 51/17), ki za naročanje hrane in prehranskih storitev določa okoljske zahteve in merila. Ta uredba med drugim spodbuja oziroma zahteva vključevanje ekološko pridelanih živil (trenutno vsaj 15 % vrednosti naročila) in živil iz nacionalnih shem kakovosti (trenutno vsaj 20 % vrednosti), upoštevanje lokalnih dobavnih verig, sezonskosti in zmanjševanje količine odpadne embalaže. Poleg okoljskih lahko naročniki upoštevajo tudi socialna merila, kot so podpora malim kmetom ali nakup izdelkov iz pravične trgovine, čeprav se

ta v praksi manj pogosto uporabljajo (Sanye Mengual in sod., 2024). Kljub obstoječemu pravnemu okviru pa se izvajanje zelenega in trajnostnega javnega naročanja v praksi sooča s številnimi izzivi. Mednje sodijo prevlada kriterija najnižje cene, kljub zakonski možnosti upoštevanja kakovosti in okoljskih vidikov, omejena ponudba zadostnih količin lokalnih, sezonskih ali ekoloških živil, administrativne ovire za manjše ponudnike ter potencialno pomanjkanje znanja in kapacitet naročnikov za učinkovito implementacijo.

4.2 NACIONALNE PREHRANSKE SMERNICE IN POLITIKE

Drugo ključno orodje makro ravni za usmerjanje prehranskih praks predstavljajo nacionalne prehranske smernice in strategije. V Sloveniji so bile leta 2024 sprejete prenovljene Smernice za prehranjevanje v vzgojno-izobraževalnih zavodih (MVI, 2024), ki prvič eksplicitno in sistematično vključujejo načela trajnosti, s priporočili za pogostejše vključevanje stročnic, zelenjave, sadja in polnozrnatih žit, zmernejše uživanje mesa, uporabo lokalnih, sezonskih in ekoloških živil, načrtovanje za zmanjšanje odpadkov ter pripravo hrane iz osnovnih surovin. Čeprav smernice predstavljajo pomemben napredek, je njihova učinkovitost odvisna od implementacije v praksi. Šole se soočajo z različnimi ovirami (kadrovskimi, finančnimi, infrastrukturnimi), ki lahko otežijo dosledno upoštevanje smernic. Ključnega pomena so zato mehanizmi za spremljanje izvajanja smernic in zagotavljanje ustrezne podpore šolam, kot so izobraževanja, svetovanje in finančne spodbude. Poleg specifičnih smernic na makro raven vplivajo tudi širše nacionalne in evropske strategije ter programi, na primer Resolucija o nacionalnem programu o prehrani in telesni dejavnosti (2015), Strategija za manj izgub hrane in manj odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano „Spoštujmo hrano, spoštujmo planet“ (MKGP in MOPE; 2021), Akcijski načrt za razvoj ekološkega kmetijstva (MKGP, 2021) in Strategija EU "Od vil do vilic" (EK, 2020). Za uspešno implementacijo je nujno medsektorsko sodelovanje med različnimi ministrstvi (MVI, MZ, MKGP, MOPE) in drugimi deležniki.

4.3 ŠIRŠI DRUŽBENI IN EKONOMSKI VPLIVI

Prehranske navade pa niso zgolj rezultat individualnih odločitev ali šolskih politik, ampak so globoko vpete tudi v širše družbene in ekonomske razmere. Mednje sodijo kulturne norme, saj so prehranske navade del kulturne identitete. V Sloveniji, kot v mnogih drugih državah, imajo mesne jedi pogosto osrednjo vlogo v pojmovanju "pravega" obroka (Graca in sod., 2022), kar lahko predstavlja oviro za povečanje deleža rastlinske prehrane. Ključna je ekonomska dostopnost trajnostnih živil; če so ekološka, lokalna ali manj predelana živila bistveno dražja, to predstavlja oviro tako za družine kot za šolske kuhinje. Vlogo lahko odigrajo subvencijske sheme, kot je Shema šolskega sadja in zelenjave (2017), ali druge finančne spodbude. Nezanemarljiv je vpliv trženja, saj oglaševanje, zlasti visoko predelanih in manj zdravih živil, močno vpliva na preference otrok in lahko spodkopava prizadevanja za bolj trajnostno prehrano (Boyland in sod., 2022), kar morda kliče po regulativnih omejitvah. Nazadnje, na sprejemanje sprememb vplivata tudi stopnja ozaveščenosti javnosti o povezavah med prehrano, zdravjem in okoljem ter prevladujoč diskurz o trajnostni prehrani v medijih in družbi.

5 ZAKLJUČEK

Oblikovanje trajnostnih prehranskih navad pri otrocih je večplasten proces, ki ga sooblikujejo dejavniki na mikro, mezo in makro ravni. Kot smo prikazali v tem prispevku, se temelji prehranskih preferenc in navad postavljajo na mikro ravni, znotraj družine, pod vplivom otrokovih prirojenih značilnosti, starševskih praks, zgleda in domačega prehranskega okolja. Vendar te navade niso statične; nanje pomembno vpliva mezo raven – šolsko okolje. Sistem organizirane šolske prehrane v Sloveniji, ki dnevno doseže ogromno število otrok, ima nedvomno velik potencial za spodbujanje bolj trajnostnih izbir. Kljub temu izsledki projekta Šolski krožnik in mednarodne raziskave kažejo na znatne izzive: infrastrukturne in kadrovske omejitve, težave pri sprejemanju novih, trajnostnih jedi (zlasti zelenjave in stročnic), kar vodi v povečano količino zavržene hrane, ter iskanje ravnotežja med vzgojnimi cilji in praktičnimi vidiki delovanja kuhinje. Na koncu sta obe ravni močno odvisni od makro ravni, ki prek nacionalnih smernic, zakonodaje o javnem naročanju, ekonomskih pogojev in širših družbeno-kulturnih norm postavlja okvir delovanja.

Vse to vodi do ključnega vprašanja: Ali je šola, glede na vse kompleksnosti in izzive, zlasti glede odpadne hrane in omejenih virov, res najprimernejši poligon za uvajanje novih, trajnostnih prehranskih praks? Morda bi morala

biti njena vloga bolj osredotočena na utrjevanje pozitivnih navad, zagotavljanje podpornega okolja, kakovostno prehransko izobraževanje in spodbujanje radovednosti, medtem ko bi primarno odgovornost za zgodnje oblikovanje navad še vedno nosila družina, podprta s spodbudnimi politikami in ukrepi. Ne glede na odgovor je jasno, da lahko šola svoj potencial za spodbujanje trajnostne prehrane polno izkoristi le ob ustrezni sistemski podpori, premagovanju identificiranih ovir ter tesnem sodelovanju med vsemi tremi ravni.

6 VIRI

- Akcijski načrt za razvoj ekološkega kmetijstva do leta 2027. 2021. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Dostopno na: https://www.gov.si/assets/ministrstva/MKGP/PODROCJA/KMETIJSTVO/Ekolosko_kmetijstvo/Akcijski-nacrt-za-razvoj-ekoloskega-kmetijstva-do-leta-2027.pdf
- Beauchamp G.K., Mennella J.A. 2011. Flavor perception in human infants: development and functional significance. *Digestion*, 83(Suppl. 1): 1–6. doi:10.1159/000323397
- Bialek-Dratwa A., Krzystanek M., Bialek K., Krupinska P. 2022. Food Neophobia and Its Association with Dietary Intake, Nutritional Status, and Olfactory Function among Children Aged 3–6 Years: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*, 14(19): 4193. doi:10.3390/nu14194193
- Birch L.L., Fisher J.O. 1998. Development of eating behaviors among children and adolescents. *Pediatrics*, 101(3 Pt 2): 539–549. doi:10.1542/peds.101.3.S2.539
- Birch L.L., Fisher J.O., Davison K.K. 2003. Learning to overeat: maternal use of restrictive feeding practices promotes girls' eating in the absence of hunger. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(2): 215–220. doi:10.1093/ajcn/78.2.215
- Birch L.L., Gunder L., Grimm-Thomas K., Laing D.G. 1998. Infants' consumption of a new food enhances acceptance of similar foods. *Appetite*, 30(3): 283–295. doi:10.1006/appe.1997.0146
- Black J.L., Rideout K., Levy E., Morrison L. 2015. Sustainability and public health nutrition at school: assessing the integration of healthy and environmentally sustainable food initiatives in Vancouver schools. *Public Health Nutrition*, 18(14): 2594–2605. doi:10.1017/S136898001500152X
- Blissett J., Fogel A. 2013. Intrinsic and extrinsic influences on children's acceptance of new foods. *Physiology & Behavior*, 121: 89–95. doi:10.1016/j.physbeh.2013.03.003
- Boyland E., McGale L., Maden M., Hounscome J., Boland A., Angus K., Jones A. 2022. Association of Food and Nonalcoholic Beverage Marketing With Children and Adolescents' Eating Behaviors and Health: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatrics*, 176(7): e221037. doi:10.1001/jamapediatrics.2022.1037
- Bryant M., Hinde K., Thompson J., Cohen J.N., Nixon C.A., Beanlands H., ... Cade J.E. 2023. Understanding school food systems to support the development and implementation of food based policies and interventions. *The International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 20(1): 32. doi:10.1186/s12966-023-01432-2
- Caldeira S., Storcksdieck genannt Bonsmann S., Bakogianni I., Gauci C., Calleja A., Furtado A. 2017. Public Procurement of Food for Health, Technical report on the school setting. Luxembourg, Publications Office of the European Union, Directorate-General for Health and Food Safety, Joint Research Centre. Dostopno na: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/1a872554-5174-11e7-a5ca-01aa75ed71a1/language-en>
- Cappelletto S., Olsen A. 2021. Children's food texture preferences and their association with food neophobia and oral sensory sensitivity. *Food Quality and Preference*, 89: 104142. doi:10.1016/j.foodqual.2020.104142
- Cooke L. 2007. The importance of exposure for healthy eating in childhood: a review. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 20(4): 294–301. doi:10.1111/j.1365-277X.2007.00804.x
- Cullen K.W., Baranowski T., Owens E., Marsh T., Rittenberry L., de Moor C. 2003. Availability, accessibility, and preferences for fruit, 100% fruit juice, and vegetables influence children's dietary behavior. *Health Education & Behavior*, 30(5): 615–626. doi:10.1177/1090198103257254
- Direktiva 2014/24/EU Evropskega parlamenta in Sveta z dne 26. februarja 2014 o javnem naročanju in razveljavitvi Direktive 2004/18/ES. 2014. Uradni list Evropske Unije, L 94: 65–242.
- Dos Santos P.M.F.D.S., da Silva G.S.B., Pereira P.T.R., ... de Castro L.C.V. 2024. Schools' green restaurant assessment (S-GRASS): From validating an instrument to identifying sustainable practices in schools food services. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 36: 100913. doi:10.1016/j.ijgfs.2024.100913
- Dovey T.M., Staples P.A., Gibson E.L., Halford J.C.G. 2008. Food neophobia and 'picky/fussy' eating in children: A review. *Appetite*, 50(2–3): 181–193. doi:10.1016/j.appet.2007.09.009

- Evropska komisija. 2020. Sporočilo Komisije Evropskemu parlamentu, Svetu, Evropskemu ekonomsko-socialnemu odboru in Odboru regij: Strategija „od vil do vilic“ za pravičen, zdrav in okolju prijazen prehranski sistem. COM(2020) 381 final. Dostopno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/?uri=CELEX:52020DC0381>
- FAO, WHO. 2019. Sustainable healthy diets – Guiding principles. Rome, FAO and WHO.
- Gentina E., Muratore I. 2012. Reciprocal socialisation of adolescents and their parents in the case of consumer behaviour: the role of the communication style. *Young Consumers*, 13(1): 87–100. doi:10.1108/17473611211203941
- Godin E., Langlois M. 2021. Gender relations and dynamics in the sustainable consumption practices of Canadian families. *Consumption and Society*, 1(1): 115–135. doi:10.1332/GYQV8017
- Grača J., Godinho C.A., Truninger M. 2022. Enabling sustainable food transitions in schools: a systemic approach. *British Food Journal*, 124(13): 202–219. doi:10.1108/BFJ-11-2021-1188
- Hammons A.J., Fiese B.H. 2011. Is frequency of shared family meals related to the nutritional health of children and adolescents? *Pediatrics*, 127(6): e1565–e1574. doi:10.1542/peds.2010-1440
- Hasselberg C.W., Normann A., Hansen H.K. 2024. Child agency and intergenerational influence in families transitioning toward plant-based diets. *Sustainability: Science, Practice and Policy*, 20(1): 2331590. doi:10.1080/15487733.2024.2331590
- Hughes S.O., Power T.G., Fisher J.O., Mueller S., Nicklas T.A. 2011. Revisiting a neglected construct: parenting styles in a child-feeding context. *Appetite*, 56(2): 365–375. doi:10.1016/j.appet.2010.12.022
- Johnson S.L., Davies P.L., Boles R.E., Gavin W.J., Bellows L.L. 2015. Young Children's Food Neophobia Characteristics and Sensory Behaviors Are Related to Their Food Intake. *The Journal of Nutrition*, 145(11): 2610–2616. doi:10.3945/jn.115.217299
- Koerber K. v. 2017. Dimensions and concepts of sustainable diets. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76(1): 1–8. doi:10.1017/S002966511600142X
- Kokkorou A. 2024. Interventions based on sensory-hedonic strategies and on nudging to facilitate vegetable and pulses consumption in the school environment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(4): e13312. doi:10.1111/1541-4337.13312
- Laureati M., Bergamaschi V., Ratti S., Pagliarini E. 2020. Cross-cultural differences in children's food texture preferences: An investigation on Italian and Danish children. *Food Quality and Preference*, 80: 103813. doi:10.1016/j.foodqual.2019.103813
- Maier A., Chabanet C., Schaal B., Leathwood P., Issanchou S. 2007. Effects of repeated exposure on acceptance of initially disliked vegetables in 7-month old infants. *Food Quality and Preference*, 18(8): 1023–1032. doi:10.1016/j.foodqual.2007.04.004
- Mennella J.A., Jagnow C.P., Beauchamp G.K. 2001. Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics*, 107(6): E88. doi:10.1542/peds.107.6.e88
- Mennella J.A., Reiter A.R., Daniels L.M. 2016. Vegetable and Fruit Acceptance during Infancy: Impact of Ontogeny, Genetics, and Early Experiences. *Advances in Nutrition*, 7(1): 211S–219S. doi:10.3945/an.115.010561
- Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (MKGP), Ministrstvo za okolje in prostor (MOP). 2021. Strategija za manj izgub hrane in manj odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano „Spoštujmo hrano, spoštujmo planet“. Ljubljana, MKGP, MOP. Dostopno na: https://www.gov.si/assets/ministrstva/MKGP/PODROCJA/HRANA/Zavrzki_odpadna_hrana/Strategija_izguba_hrane_odpadna-hrana.pdf
- Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje (MVI). 2024. Smernice za prehranjevanje v vzgojno-izobraževalnih zavodih. Ljubljana, Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje.
- Nekitsing C., Hetherington M.M., Blundell-Birtill P. 2018. Developing Healthy Food Preferences in Preschool Children Through Taste Exposure, Sensory Learning, and Nutrition Education. *Current Obesity Reports*, 7(1): 60–67. doi:10.1007/s13679-018-0297-z
- Pastorino R., Cavallo F., Abrahams M., Kirby A., Bärnighausen T., Bukachi S.A., ... School Meals Coalition Research Consortium. 2023. Scaling up school meal programmes: Global evidence from the School Meals Coalition Research Consortium. *The Lancet Global Health*, 11(10): e1621–e1629. doi:10.1016/S2214-109X(23)00343-7
- Pater L., Jans L., van Dam E.G.C.M., Postma E., de Vet E., van Kleef E. 2025. How Adolescents Influence Their Parents to Adopt Plant-Based Diets: Mechanisms and Parenting Styles. *Nutrients*, 17(1): 47. doi:10.3390/nu17010047

- Pliner P., Hobden K. 1992. Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite*, 19(2): 105–120. doi:10.1016/0195-6663(92)90014-w
- Resolucija o nacionalnem programu o prehrani in telesni dejavnosti za zdravje 2015–2025 (ReNPVHD15-25). Uradni list RS, št. 72/15.
- Sabet S.K., Davies A.R., Russell S. 2025. Towards sustainable school food: An experiential planetary health framework integrating meals and food education. *British Educational Research Journal*. doi:10.1002/berj.4100
- Salvy S.-J., de la Haye K., Bowker J.C., Hermans R.C.J. 2012. Influence of peers and friends on children's and adolescents' eating and activity behaviors. *Physiology & Behavior*, 106(3): 369–378. doi:10.1016/j.physbeh.2012.03.022
- Sanye Mengual E., Valenzano A., Sinkko T., Garcia Herrero L., Casonato C., Listorti G., Sala S. 2024. Sustainable public procurement: current status and environmental impacts. Luxembourg, Publications Office of the European Union. JRC134432. Dostopno prek: <https://data.europa.eu/doi/10.2760/06145>
- Scaglioni S., De Cosmi V., Ciappolino V., Parazzini F., Brambilla P., Agostoni C. 2018. Factors influencing children's eating behaviours. *Nutrients*, 10(6): 706. doi:10.3390/nu10060706
- Statistični urad Republike Slovenije (SURS). 2024. V vrteih in osnovnih šolah manj otrok, dijakov pa več. Ljubljana, SURS. Dostopno prek: <https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/12827>
- Sudin P., Strid A., Williams H., Östergren K. 2023. Investigating goal conflicts in menu planning in Swedish school catering on the pathway to sustainable development. *Journal of Environmental Management*, 329: 117009. doi:10.1016/j.jenvman.2022.117009
- Torres T. de O., Gomes D.R., Mattos M.P. 2020. Factors associated with food neophobia in children: systematic review. *Revista Paulista De Pediatria*, 39: e2020089. doi:10.1590/1984-0462/2021/39/2020089
- Uredba o izvajanju šolske sheme. Uradni list RS, št. 3/18, 15/19, 55/20, 189/21 in 78/23.
- Uredba o zelenem javnem naročanju. Uradni list RS, št. 51/17, 64/19, 31/21 in 121/21 – ZJN-3C.
- Ustun-Elayan B., Blissett J., Covey J., Schaal B., Reissland N. 2025. Flavor learning and memory in utero as assessed through the changing pattern of olfactory responses from fetal to neonatal life. *Appetite*, 208: 107891. doi:10.1016/j.appet.2025.107891
- Ventura A.K., Birch L.L. 2008. Does parenting affect children's eating and weight status? *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 5: 15. doi:10.1186/1479-5868-5-15
- Vennerød F.F., Almli V.L., Varela P., Hersleth M. 2018. Basic taste sensitivity, genetics and taste preference in 4–6-year-old children. A study using PROP (6-n-propylthiouracil) and basic taste solutions. *Appetite*, 120: 171–179. doi:10.1016/j.appet.2017.08.027
- Waling M., Larsson C. 2017. Listening to teachers: Challenges and opportunities for nutritional education using school meals. *Health Education Journal*, 76(7): 873–885. doi:10.1177/0017896917715234
- Werthmann J., Jansen A., Havermans R., Nederkoorn C., Kremers S., Roefs A. 2015. Bits and pieces. Food texture influences food acceptance in young children. *Appetite*, 84: 181–187. doi:10.1016/j.appet.2014.09.025
- Willett W., Rockström J., Loken B., Springmann M., Lang T., Vermeulen S., ... Murray C.J.L. 2019. Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*, 393(10170): 447–492. doi:10.1016/S0140-6736(18)31788-4
- Zakon o javnem naročanju (ZJN-3). Uradni list RS, št. 91/15, 14/18, 121/21, 10/22, 74/22 – odl. US, 100/22 – ZNUZSZS, 28/23 in 88/23.
- Zakon o šolski prehrani (ZŠolPre-1). Uradni list RS, št. 3/13, 46/14, 46/16 – ZOFVI-K, 76/23 in 61/24.

RASTLINSKI NADOMESTKI MLEKA IN MLEČNIH IZDELKOV: POGLED V POZNAVANJE, SPREJEMANJE IN MOTIVACIJO ZA NAKUP MED ODRASLIMI POTROŠNIKI V SLOVENIJI

Kaja KRANJC¹, Andreja ČANŽEK MAJHENIČ² in Tanja PAJK ŽONTAR³

Povzetek: Naraščajoče zanimanje za rastlinske nadomestke živil živalskega izvora je odraz spreminjanja odnosa potrošnikov, ki ga vodijo zdravstveni, okoljski in etični vidiki. Namen raziskave je bil preučiti poznavanje, sprejemanje in motivacijo za uživanje rastlinskih nadomestkov (RN) mleka in mlečnih izdelkov med odraslimi potrošniki v Sloveniji. S spletno anketo, v kateri je sodelovalo 1500 oseb, smo zbrali podatke o prehranskih navadah, zaznavi prehranske ustreznosti RN mleka, poznavanju sestavin in vplivu socialno-demografskih dejavnikov na zaznavanje teh izdelkov. Rezultati so pokazali, da na zaznavanje RN mleka in mlečnih izdelkov pomembno vplivajo spol, starost in način prehranjevanja. Ženske, mlajši posamezniki, vegetarijanci in vegani so RN mleka pogosteje dojemali kot zdrave alternative. Vegani in vegetarijanci so izrazili večjo zaskrbljenost zaradi ostankov hormonov in antibiotikov v živilih živalskega izvora, medtem ko so omnivori izražali večjo zaskrbljenost glede prehranske ustreznosti RN mleka in več pozornosti namenjali vsebnosti hranil, kot je kalcij. Zaznali smo, da na razumevanje označb na živilih pomembno vplivajo prehranske navade in že obstoječa prepričanja potrošnikov. Naši rezultati kažejo, da je zaznavanje RN mleka znatno pogojeno z znanjem posameznika, zato bi lahko usmerjeno izobraževanje o prehrani in transparentno označevanje živil prispevala k boljši prehranski pismenosti in bolj informiranim prehranskim odločitvam potrošnikov.

Ključne besede: rastlinski nadomestki mleka, potrošniki, Slovenija, mleko, mlečni izdelki

PLANT-BASED MILK AND DAIRY ALTERNATIVES: INSIGHTS INTO AWARENESS, ACCEPTANCE, AND PURCHASE MOTIVATION AMONG ADULT CONSUMERS IN SLOVENIA

Abstract: The growing interest in plant-based alternatives to animal-derived foods reflects changing consumer attitudes driven by health, environmental, and ethical considerations. This study aimed to explore the awareness, acceptance, and motivations for purchasing plant-based milk and dairy alternatives among Slovenian adult consumers. An online survey was conducted with 1500 participants, capturing socio-demographic data, lifestyle factors, dietary patterns, perceptions of plant-based milk and dairy alternatives, and attitudes towards food labeling. Results revealed significant differences in plant-based milk and dairy alternatives perception depending on sex, age, and dietary habits. Females, younger participants, vegetarians and vegans more often perceived plant-based milk and dairy alternatives as healthier options. Vegans and vegetarians expressed greater concern over hormone and antibiotic residues in animal products, while omnivores were more skeptical about the nutritional adequacy of plant-based milk and dairy alternatives but showed greater interest in calcium fortification. We have found that the understanding of food labels is strongly influenced by consumers' eating habits and pre-existing beliefs. The study highlights the importance of targeted communication and consumer education to improve food literacy and promote informed dietary choices in the context of sustainable nutrition.

Keywords: plant-based milk alternatives, consumers, Slovenia, milk, dairy products

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

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale, e-mail: andreja.canzek@bf.uni-lj.si

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

1 UVOD

Trenutni globalni vzorci prehranjevanja in prehranski sistemi ne zagotavljajo skladnosti s sodobnimi smernicami prehranjevanja in niso trajnostni predvsem z vidika varovanja okolja (Meybeck in sod., 2017). V obstoječem prehranskem sistemu je identificiranih kar nekaj točk, kjer bi lahko uvedli trajnostno naravnane spremembe, vendar se zdi malo verjetno, da bo kmetijski sektor lahko dosegel globalne podnebne cilje brez sočasne spremembe prehranskih navad potrošnikov (FAO, 2018). Kot odgovor na trajnostne cilje prehranskih sistemov, se je v zadnjem desetletju začel spodbujati prehod na »trajnostno prehrano«. FAO za trajnostne načine prehranjevanja definira načine prehranjevanja, ki sledijo trenutnim prehranskim smernicam, imajo majhen učinek na okolje, hkrati pa morajo biti cenovno dostopne in kulturno sprejemljive. V praksi bi to pomenilo, da pričnemo s takim načinom prehranjevanja, ki spodbuja k uživanju živil rastlinskega izvora in zmanjšuje uživanje živil živalskega izvora (Sabaté in Soret, 2014; von Koerber in sod., 2017; Meybeck in sod., 2017).

Posledice neuravnoteženega prehranjevanja z nizkim vnosom sadja in zelenjave, oreškov in polnozrnatih izdelkov ter večjim vnosom živil živalskega izvora, predvsem tehnološko visoko predelanih izdelkov iz rdečega mesa in nenazadnje prekomernega vnosa soli, močno obremenjujejo zdravstvene sisteme po vsem svetu. Kot posledica se je začel razvijati trg rastlinskih nadomestkov (RN) mesa in mesnih izdelkov ter mleka in mlečnih izdelkov, vzporedno s tem pa med potrošniki raste tudi priljubljenost tovrstnih izdelkov (Statista, 2025a). Zato se v zadnjem desetletju rast trga RN živil živalskega izvora kaže kot eden vidnih prehranskih trendov v razvitem svetu (Sethi in sod., 2016; Chalupa-Krebzdak in sod., 2018). Po podatkih portala Statista (2025b) je bila leta 2020 globalna vrednost trga RN živil živalskega izvora ocenjena na slabih 30 milijard ameriških dolarjev, ki se je do leta 2024 povzpela na 65 milijard ameriških dolarjev. Porast zanimanja za tovrstne izdelke je tesno povezan s številnimi dejavniki, med katerimi izstopajo okoljski vidiki, zdravstveni pomisleki, etične vrednote ter naraščajoča ozaveščenost potrošnikov o hranilni sestavi živil (Neufingerl in Eilander, 2021; Curtain in Grafenauer, 2019). Čeprav so rastlinski napitki na osnovi soje, ovsa, mandljev in drugih rastlinskih virov danes široko dostopni tudi v slovenskih trgovinah, ostajajo vprašanja glede njihovega dejanskega poznavanja in sprejemanja ter motivacije za nakup med potrošniki v Sloveniji še razmeroma slabo raziskana.

Z namenom iskanja odgovorov na omenjeno tematiko smo izvedli spletno anketo, pri kateri je sodelovalo 1500 odraslih prebivalcev Slovenije. Vprašalnik je zajemal demografske podatke, prehranske navade, pogostost uživanja RN mleka in mlečnih izdelkov, poznavanje sestavin RN mleka in mlečnih izdelkov in motivacijo za njihov nakup ter pogostost njihovega uživanja. Rezultati ponujajo vpogled v prehranske vzorce, poznavanje RN mleka in mlečnih izdelkov, zaznavanje in razumevanje označb na izdelkih in odkrivajo ključne dejavnike, ki vplivajo na njihovo odločitev ob nakupu RN mleka in mlečnih izdelkov (Giacalone in sod., 2022; Sogari in sod., 2023).

2 PREGLED OBJAV

Beseda »nadomestek« je v Slovarju slovenskega knjižnega jezika (SSKJ) interpretirana kot izdelek, snov, ki prevzame, ima funkcijo česa pristnega, prvotnejšega, boljšega (Fran, 2005). Uradna definicija za RN živil živalskega izvora ne obstaja, vendar načeloma velja, da so to izdelki, oblikovani na način, da posnemajo senzorične, prehranske in funkcionalne lastnosti živil živalskega izvora, pri čemer so vse sestavine rastlinskega izvora.

Potrošnikovo zaznavanje živilskih izdelkov se zaradi globalizacije, višje stopnje izobraženosti, zdravstvene ozaveščenosti ter dviga življenjskega standarda nenehno spreminja. Sodobni potrošniki se vse pogosteje odločajo za živila, ki jih dojemajo kot trajnostna, okolju in živalim prijazna, zdrava ter etično sprejemljiva. Ena vidnejših sprememb je naraščajoča priljubljenost RN mleka in mlečnih izdelkov, s katerimi potrošniki vse pogosteje zamenjujejo primerljiva živila živalskega izvora (Mekanna in sod., 2024).

Med številnimi ključnimi dejavniki v procesu odločanja imajo kognitivni dejavniki pomembno vlogo pri spodbujanju uvajanja trajnostne prehrane, saj mora prehod na trajnostni življenjski slog upoštevati ne le

individualne potrebe in všečnost potrošnikov, temveč tudi njihove moralne vrednote in znanje o prehranskih potrebah ter varovanju okolja. Raziskave kažejo, da RN potrošniki pogosto dojemajo kot okolju prijaznejše in tudi kot bolj zdrave v primerjavi z izdelki živalskega izvora (De Oliveira Padilha in sod., 2022; Schiano in sod., 2020; Profeta in sod., 2021; Michel in sod., 2021). Nekatere raziskave poudarjajo, da so RN manj škodljivi za okolje kot večina živil živalskega izvora, zlasti zaradi izgub, ki nastanejo v verigi pri proizvodnji končnih izdelkov (Saerens in sod., 2021). Vendar pa so RN pogosto visoko tehnološko predelana živila, katerih kompleksna obdelava in predelava zahteva veliko energije in povzroča izgube med pretvorbo osnovne surovine v končni izdelek (Smetana in sod., 2021), saj mora biti le ta čim bolj podoben izdelku živalskega izvora, ki ga posnema.

Cilj proizvajalcev RN je čim bolj posnemati izdelke živalskega izvora, kar zajema tudi senzorični vidik, ki se pogosto osredotoča na oceno podobnosti s tradicionalnimi živilmi. Za doseganje senzorične sprejemljivosti so potrebne potrošniške raziskave, ki ocenjujejo senzorične značilnosti teh živil in njihovo zaznavo med uživanjem. Optimizacija procesov in razvoj novih tehnologij žene napredek na področju RN, vendar zahteva tudi stalno vrednotenje senzoričnih lastnosti z vidika potrošnika. Čeprav je senzorična analiza pomembno orodje za vrednotenje potrošnikove všečnosti in senzorične sprejemljivosti živil, je sama po sebi nezadostna, saj je senzorična sprejemljivost le eden od dejavnikov, ki vplivajo na izbiro in uživanje hrane (Jaeger in Giacalone, 2021).

Številne raziskave so dokazale, da zmanjšanje uživanja rdečega in predelanega mesa ter delna zamenjava živalskih virov beljakovin z živilmi rastlinskega izvora pozitivno vpliva na zmanjšan vnos nasičenih maščobnih kislin in večji vnos prehranske vlaknine (Vatanparast in sod., 2020). Glede na to, da se proizvajalci RN poskušajo po senzoričnih lastnostih približati živilom živalskega izvora, zaradi česar RN poleg osnovnih rastlinskih surovin (stročnice, oreščki, semena ipd.) pogosto vsebujejo več soli, sladkorja, nasičenih maščob ter dodanih arom in aditivov (Pointke in Pawelzik, 2022a; Lane in sod., 2021).

Po podatkih portala Statista (2025b), ki Slovenije ne vključuje v analizo, je leta 2023 več kot polovica evropskih potrošnikov uživala RN mleka vsaj enkrat mesečno, medtem ko jih je več kot 20 % poročalo o skoraj vsakodnevnem uživanju teh izdelkov. V številnih študijah so že preučevali odnos potrošnikov do RN mleka in mlečnih izdelkov, pri čemer so poročali, da so odločitve potrošnikov rezultat kompleksnega medsebojnega vpliva etičnih, okoljskih in ekonomskih dejavnikov (Mekanna in sod., 2024). Na izbiro vplivajo socio-demografske in okoljske značilnosti, kot so starost (Lee in sod., 2024), spol (Lee in sod., 2024), kraj bivanja (mestno ali ruralno okolje) (Beacom in sod., 2021), okoljska ozaveščenost (Su in sod., 2024) ter način prehranjevanja (Haas in sod., 2019; Martínez-Padilla in sod., 2023; Denver in sod., 2023; Lawrence in sod., 2024; Pointke in sod., 2022b).

V Sloveniji je močno prisotna prehranska tradicija z osredotočenostjo na mlečne izdelke (Knez Hrnčič in sod., 2021). Z raziskavo smo želeli ugotoviti, kako dojemajo odrasli potrošniki v Sloveniji RN mleka in mlečnih izdelkov. Zanimalo nas je, kako na sprejemanje vplivajo socialno-demografski dejavniki, pretekle izkušnje z RN ter hranilna vrednost in sestavine RN. Poleg tega smo z vprašalnikom želeli izvedeti, kakšen odstotek odraslih zamenjuje mleko in mlečne izdelke z RN in kakšni so njihovi razlogi za zamenjavo. Rezultati naše raziskave bi lahko pomagali pri nadaljnjem razvoju RN mleka in mlečnih izdelkov ter pripomogli k boljšemu razumevanju njihove sprejemljivosti med potrošniki. Študija se je posebej osredotočila na naslednja raziskovalna vprašanja:

- Kako na življenjski slog in samopodobo posameznika vplivajo socialno-demografski dejavniki?
- Kako na percepcijo in izbiro RN vplivajo socialno-demografski dejavniki?
- Kako življenjski slog posameznikov vpliva na odnos do RN?
- Kateri so najpogostejši razlogi za zamenjevanje mleka in mlečnih izdelkov z RN?
- Kakšno je znanje potrošnikov o RN mleka in mlečnih izdelkov

3 MATERIAL IN METODE

3.1 POTEK OBLIKOVANJA ANKETNEGA VPRAŠALNIKA IN ANKETIRANJA

Na podlagi pregleda znanstvene literature smo pripravili strokovno podlago za pripravo anketnega vprašalnika, kjer so bila vprašanja razdeljena na več tematskih sklopov. Vprašalnik je vseboval 28 vprašanj, od tega je bilo

prvih 10 povezanih s socialno demografskimi podatki, samopodobo in življenjskim slogom (npr. kajenje, telesna dejavnost, način prehranjevanja ipd.). Ostala vprašanja so se nanašala na prehranske navade v povezavi z mlekom in mlečnimi izdelki in njihovimi RN, izkušnje z RN mlečnih izdelkov ter potrošnikovo zaznavanje tovrstnih izdelkov. Vprašanj so bila tako odprtega kot zaprtega tipa.

Pred končnim oblikovanjem vprašalnika smo izvedli pilotno anketiranje ($n = 30$), kjer smo preverili razumljivost in primernost vprašalnika. Na podlagi povratnih informacij s strani anketirancev smo vprašalnik dopolnili oziroma popravili. Z izvedbo pilotnega anketiranja smo določili tudi predvideni čas reševanja ankete, ki je znašal 15 minut.

Pred izpolnjevanjem anketnega vprašalnika so bili sodelujoči seznanjeni, da je sodelovanje v raziskavi prostovoljno, anonimno in da lahko od izpolnjevanja anketnega vprašalnika v kadarkoli odstopijo. Anketo je izvedlo zunanje tržno - raziskovalno podjetje. Raziskavo je odobrila Komisija za etično presojo raziskav s področja prehrane Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (KEP-4-3/2024).

3.2 ANKETIRANCI

Preglednica 1: Socialno-demografski podatki sodelujočih (N = 1500)

Spol	n	%
Moški	745	49,6
Ženski	747	49,8
Drugi	4	0,3
Ne želim odgovoriti	4	0,3
Starost		
18 do 30 let	215	14,3
31 do 45 let	375	25,0
46 do 60 let	420	28,0
nad 61 let	490	32,7
Najvišja pridobljena izobrazba		
Dokončana osnovna šola ali manj	262	17,5
Dokončana 2 ali 3 letna strokovna šola\poklicna izobrazba	297	19,8
Dokončana 4 letna srednja šola\gimnazija	493	32,9
Dokončana 2 letna višja šola (stari program izobraževanja),	180	12,0
Dokončana univerzitetna izobrazba (stari program izobraževanja)	201	13,4
Magister znanosti, doktor znanosti	53	3,5
Ne želim odgovoriti	14	0,9
Indeks telesne mase		
< 18	9	0,6
18 – 24,9	493	32,9
25 – 29,9	484	32,2
> 30	288	19,2
Ne želim odgovoriti	226	15,1
Način prehranjevanja		
Omnivor	1160	77,3
Vegetarijanec	148	9,9
Vegan	32	2,1
Malo/nič ogljikovih hidratov	78	5,2
Medicinsko predpisana dieta	25	1,7
Drugo/ne želim odgovoriti	57	3,7
Zakonski status		
Samski/a	264	17,6
Poročen/a	683	45,5
Zunajzakonska skupnost	388	25,9
Ločen/a, vdovec, vdova	129	8,6
Ne želim odgovoriti	36	2,4

K raziskavi smo povabili samo polnoletne prebivalce Slovenije. Iz raziskave smo izključili mladoletne in tiste, ki vprašalnika niso izpolnili do konca. Glede na predhodno predstavljene vključitvene in izključitvene faktorje, je anketni vprašalnik popolno izpolnilo 1500 odraslih prebivalcev Slovenije. Zunanje tržno - raziskovalno podjetje je zagotovilo, da je vzorec reprezentativen za Slovenijo.

3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Osrednje orodje za analizo rezultatov ankete je bil programski jezik R, podprt z različnimi statističnimi paketi. Deskriptivna statistika je bila uporabljena za opis demografskih značilnosti vzorca (npr. spol, starost, zakonski status). Za preverjanje razlik med skupinami smo uporabili hi-kvadrat test, dopolnjen z oceno velikosti učinka prek Cramerjevega V. V analizo numeričnih podatkov smo vključili povprečje, standardni odklon, mediano in kvartile. Za napredno modeliranje smo implementirali Bayesov multinomski logistični regresijski model s paketom brms v R-ju. Model je ocenjeval verjetnosti kategorij odvisnih spremenljivk glede na več neodvisnih spremenljivk ob upoštevanju naključnih učinkov. Konvergenca verig je bila preverjena z Rhat vrednostmi (cilj: ≈ 1), učinkovitost velikosti vzorca (ESS) pa je bila analizirana za zanesljivost parametrov. Interpretacija rezultatov je temeljila na razmerjih obetov (odds ratios) in 95 % kredibilnih intervalih.

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 ŽIVLJENJSKI SLOG IN SAMOPODOBA

Anketiranci so najprej odgovarjali na vprašanja, ki so se nanašala na njihov življenjski slog in samopodobo. Odgovori so se nanašali na kajenje, zdravo prehrano, pitje alkohola, telesno dejavnost, zadovoljstvo z izgledom, pojavnost tesnobe, motenj hranjenja in dismorfni telesni motenj. Anketiranci so izbirali med enajstimi odgovori, obkrožili pa so vse trditve, za katere so menili, da za njih veljajo. Zanimala nas je morebitna povezava med socialno-demografski dejavniki (Preglednica 1) ter življenjskim slogom in samopodobo posameznika. Ugotovili smo, da povezave obstajajo, najpogostejše pa so bile povezane s spolom.

Rezultati naše raziskave kažejo, da spol pomembno vpliva ($p < 0,05$) na samopodobo, prehranske navade, telesno dejavnost in duševno zdravje, kar je skladno z ugotovitvami preteklih raziskav (Arkenau in sod., 2022; He in sod., 2020; Feraco in sod., 2024; Albert, 2015; Schuch in sod., 2014). V primerjavi z moškimi so ženske 3,8-krat pogostejše poročale o nezadovoljstvu z izgledom, kar ugotavljajo tudi Arkenau in sod., (2022), ki navajajo da ženske že od mladosti doživljajo večji pritisk družbenih norm glede telesne samopodobe in pogostejše izražajo skrb glede videza. Zanimivo je tudi, da so ženske v naši raziskavi tudi 1,9-krat pogostejše izbrale odgovor o zadovoljstvu s svojim izgledom, kar lahko kaže na večjo samoopazovanje, samospregemanje in refleksijo o videzu. Pogostejše poročanje o zadovoljstvu in obenem nezadovoljstvu s samopodobo so opazili tudi He in sod. (2020), kar so pripisali vse večjemu vplivu t.i. gibanja telesne pozitivnosti, ki je dosegel večji učinek med ženskami.

Ženske so 2-krat pogostejše poročale o telesni dejavnosti in 2,4-krat pogostejše o zdravem načinu prehranjevanja. Na osnovi tega zaključujemo, da imajo ženske v povprečju pogostejše vedenja, povezana z zdravim življenjskim slogom (izogibanje visoko predelani hrani, pogostejše uživanje sadja in zelenjave), a so v povprečju manj telesno dejavne (Feraco in sod., 2024).

Med odgovori je bila tudi trditev »spopadam se s tesnobo (anksioznostjo) in/ali z motnjami razpoloženja«, s čemer so se ženske poistovetile 2,8-krat pogostejše kot moški. Povečana pogostost tesnobe in/ali razpoloženskih motenj pri ženskah v naši raziskavi je prav tako podprta z obstoječimi epidemiološkimi podatki, ki kažejo, da imajo ženske večjo pojavnost anksioznih motenj in depresije kot moški. Možni razlogi vključujejo hormonske spremembe, večjo čustveno izražanje ter večjo odzivnost na zunanje stresorje (Albert, 2015; Schuch in sod., 2014).

4.2 SOCIALNO DEMOGRAFSKI DEJAVNIKI, NAČIN PREHRANJEVANJA IN DUŠEVNO ZDRAVJE

Anketirance smo povprašali tudi o njihovih prehranskih navadah. Slabih 10 % ($n = 148$) jih je poročalo, da se prehranjujejo vegetarijansko, 2,1 % vprašanih ($n = 32$) pa se je identificiralo kot veganov (Preglednica 1). V nadaljevanju raziskave nas je zanimalo ali obstaja in kakšna je povezava med socialno-demografskimi podatki in načinom prehranjevanja. Po statistični obdelavi se je izkazalo, da na način prehranjevanja vplivajo spol, zakonski status in stopnja izobrazbe.

Rezultati naše raziskave kažejo 54 % večjo verjetnost, da bodo vegetarijanke ženske. Tudi druge primerljive študije kažejo, da so, v primerjavi z moškimi, ženske pogostejše vegetarijanke (Nezlek in Forestell, 2024). Avtorja poročata, da je v Združenih državah Amerike delež vegetarijank narasel s 4,3 % (2008) na 8,7 % (2023), medtem ko se je delež vegetarijancev v istem obdobju zmanjšal s 3,2 % na 2,7 %. Poudarjata, da so ti podatki verjetno posledica večje zaskrbljenosti žensk glede dobrobiti živali in etičnih razlogov za opustitev mesa.

Prav tako smo opazili približno 50 % manjšo verjetnost, da bo vegetarijanec oseba, ki živi s partnerjem ali je poročena. Podobno sta ugotovila tudi Bedford in Barr (2005), ki poročata, da so vegetarijanci pogostejše samski v primerjavi z ne-vegetarijanci.

V raziskavi smo tudi ugotovili, da imajo vegetarijanci znatno višje obete za razvoj dismorfnihi telesnih motenj (5,3-krat) in tesnobe (3,6-krat) v primerjavi z omnivori. Intervali zaupanja za razmerje obetov potrjujejo, da so ti rezultati statistično značilni in ne zgolj naključni. Do podobnih zaključkov so prišli tudi v drugih raziskavah. Burkert in sod. (2012) navajajo, da so vegetarijanci poročali o višji stopnji tesnobe in depresije v primerjavi z ne-vegetarijanci. Prav tako so v meta-analizi Dobersek in sod. (2021) navedli, da je izogibanje mesu povezano z večjo verjetnostjo depresije, tesnobe in samopoškodbenega vedenja. Haghighatdoost in sod. (2023) so preučevali vpliv dobro načrtovane veganske prehrane na duševno zdravje veganov. Ugotovili so, da je dobro načrtovana veganska prehrana (predvsem iz osnovnih živil, brez visoko tehnološko predelanih živil) povezana z manjšim tveganjem za razvoj tesnobe in depresije, medtem ko je neustrezno načrtovana veganska prehrana povečala tveganje za razvoj duševnih motenj.

Naj poudarimo, da vzročno-posledične povezave med vegetarijansko prehrano in duševnim zdravjem niso povsem jasne, kar potrjuje študija Michalak in sod. (2012). Pokazali so, da se duševne motnje pogosto pojavijo pred prehodom na vegetarijansko prehrano, kar nakazuje, da lahko posamezniki z obstoječimi duševnimi težavami izberejo vegetarijansko prehrano kot način za obvladovanje simptomov.

4.3 RAZLIKE V ZAZNAVANJU RASTLINSKIH NADOMESTKOV MLEKA IN MLEČNIH IZDELKOV GLEDE NA SOCIALNO-DEMOGRAFSKE LASTNOSTI IN NAČIN PREHRANJEVANJA

Zaznavanje RN mleka in mlečnih izdelkov je odvisno od spola ($p < 0,001$). Ženske so pogostejše ocenile zamenjavo mleka in mlečnih izdelkov z RN kot ugodno za zdravje. Na 5-stopenjski lestvici (1 pomeni popolno nestrinjanje in 5 popolno strinjanje), so trdile, da zamenjava mleka in mlečnih izdelkov z RN mleka in mlečnih izdelkov ugodno vpliva na zdravje, ženske v povprečju ocenile z $2,88 \pm 1,44$, medtem ko je bila povprečna ocena moških $2,57 \pm 1,36$.

Ta ugotovitev je skladna z raziskavami, ki kažejo, da ženske pogostejše izbirajo rastlinske alternative zaradi zdravstvenih in etičnih razlogov. Na primer, študija Rosenfeld in Tomiyama (2021) je pokazala, da so ženske bolj naklonjene vegetarijanski prehrani in bolj verjetno verjamejo v zdravstvene koristi rastlinskih živil v primerjavi z moškimi.

Tudi starost anketirancev je pomemben dejavnik pri zaznavanju RN mleka in mlečnih izdelkov ($p < 0,001$). Tako so mlajši anketiranci (18–30 let) dajali višje povprečne ocene ($2,87 \pm 1,42$) trditvi, da zamenjava mleka in mlečnih izdelkov z RN ugodno vpliva na zdravje, medtem ko so se starejši od 60 let ($2,48 \pm 1,38$) redkeje strinjali s to trditvijo. Ta ugotovitev je v skladu z rezultati raziskave Martínez-Padilla in sod. (2023), ki je pokazala, da mlajši potrošniki pogostejše zaznavajo RN kot naravne in zdrave ter so bolj odprti za njihovo vključevanje v prehrano.

Kot ključen dejavnik pri zaznavanju prehranske ustreznosti RN mleka in mlečnih izdelkov se je izkazal način prehranjevanja ($p < 0,001$). Vegani in vegetarijanci so pogosteje menili, da je zamenjava živil živalskega izvora z rastlinskimi ugodna za zdravje, kar sta potrdila tudi Hartmann in Siegrist (2017). Ugotovila sta, da posamezniki, ki iz prehrane izključujejo živila živalskega izvora, RN pogosteje dojemajo kot zdrave, naravne in etično sprejemljive.

Anketiranci z vegansko ali vegetarijansko prehrano, so izkazali tudi večjo zaskrbljenost glede vsebnosti nedovoljenih snovi v mleku. Številni anketiranci menijo, da se v mleku in mlečnih izdelkih nahajajo ostanki hormonov in antibiotikov ($p < 0,001$). To potrjuje tudi raziskava Szejda in sod. (2021), ki navajajo, da je skrb za zdravje živali in način reje živali pogost razlog za zmanjšano uživanje mleka ali izključitev le tega iz prehrane in pogostejšo izbiro RN.

Omnivori so bili v naši raziskavi bolj skeptični glede hranilne ustreznosti RN mleka. Slednje se ujema z ugotovitvami Medawar in sod. (2021), ki so poročali, da omnivori pogosto dvomijo v ustreznost hranilne sestave RN, še posebej glede vsebnosti beljakovin, kalcija in vitamina B₁₂. Hkrati so omnivori nekoliko pogosteje posegali po obogatenih različicah RN mleka z dodanim kalcijem. To lahko nakazuje na večjo pozornost do specifičnih hranil, o čemur govori tudi raziskava Chalupa-Krebzdak in sod. (2018), kjer ugotavljajo, da potrošniki, ki ne izključujejo mleka in mlečnih izdelkov, pri RN aktivno iščejo tiste izdelke, ki se oglašujejo kot obogateni z določenimi hranili.

4.4 PERCEPCIJA IN RAZUMEVANJE OZNAČB NA ŽIVILIH

Želeli smo tudi preveriti vpliv načina prehranjevanja na zaznavanje in razumevanje označb na živilih. Anketirancem smo predstavili dva izdelka, označena kot živilo A in živilo B, pri čemer je bilo živilo A RN mocarele, živilo B pa bivolčija mocarela. Identiteta izdelkov ni bila razkrita, smo pa raziskavo razdelili na tri dele, v katerih smo anketirancem postopoma razkrivali živila, najprej hranilno vrednost, nato sestavine in nazadnje oba podatka hkrati.

Ob predstavitvi le hranilne vrednosti obeh izdelkov (Slika 1) smo anketirance prosili, naj na lestvici od 1 do 5 (1 veliko manj zdravo, 5 veliko bolj zdravo) ocenijo, kako zdravo se jim zdi živilo A v primerjavi z živilom B. Večina anketirancev (52,3 %) je menila, da je živilo A manj zdravo ali veliko manj zdravo kot živilo B. Od tega je 29,4 % vprašanih izbralo najstrožjo oceno, da je živilo A veliko manj zdravo, medtem ko jih je 18,9 % menilo, da je živilo A bolj ali veliko bolj zdravo. Statistično značilnih razlik glede na način prehranjevanja ni bilo ($p = 0,257$).

Preglednica 2: Hranilna vrednost živil A in B

Živilo A		Živilo B	
Hranilna vrednost na 100 g izdelka		Hranilna vrednost na 100 g izdelka	
Energijska vrednost	1265 kJ/ 305 kcal	Energijska vrednost	1170 kJ/ 260 kcal
Maščobe	23,5 g	Maščobe	25,0 g
- od tega nasičene maščobe	21,3 g	- od tega nasičene maščobe	17,0 g
Ogljikovi hidrati	23,0 g	Ogljikovi hidrati	0,8 g
- od tega sladkorji	0,1 g	- od tega sladkorji	0,8 g
Beljakovine	0,3 g	Beljakovine	15,0 g
Sol	1,2 g	Sol	0,7 g

Nato smo anketirancem predstavili še seznam sestavin obeh izdelkov (Slika 2), ponovno brez navedbe vrste izdelka. Med vegani jih je 39,3 % menilo, da je živilo A bolj ali veliko bolj zdravo, medtem ko sta ta deleža znašala le 11,2 % pri vegetarijancih in 6,6 % pri omnivorih ($p < 0,001$). Nasprotno je 80,2 % omnivorov in 66,4 % vegetarijancev menilo, da je živilo B bolj ali veliko bolj zdravo kot živilo A, takega mnenja pa je bilo le 25 % veganov.

Živilo A

Sestavine: voda, kokosovo olje, modificirani škrob, morska sol, arome, barvilo: beta karoten, sredstvo za konzerviranje: sorbinska kislina.

Živilo B

Sestavine: bivoličje mleko, naravna sirotka, sol, sirilo

Slika 2: Seznam sestavin živil A in B.

V zadnjem delu so anketiranci hkrati videli hranilno vrednost in sestavine živila A in B. Ponovno smo jih prosili, da ocenijo kako zdravo se jim zdi posamezno živilo. Poleg tega so pri posameznem živilu označili, katere lastnosti so se jim zdele pozitivne ali negativne. Skupno je 29 % anketirancev menilo, da jim sestavine živila A niso bile všeč. 22,3 % jih je menilo, da so sestavine pomembnejše od hranilne vrednosti, medtem ko jih je 15,4 % izbralo nasprotno trditev. Enak delež (15,4 %) anketirancev je izpostavil, da ima živilo A več sestavin kot B, kar je med potrošniki pogosto sprejeto kot negativna lastnost. V tem delu statistično značilnih razlik glede na način prehranjevanja nismo določili.

Ti rezultati ponazarjajo pomemben vpliv predhodnega prepričanja in vrednot na zaznavanje prehranske ustreznosti živil. Medtem ko sama hranilna vrednost ni povzročila razlik v subjektivni oceni o tem, kako zdravo je živilo, je seznam sestavin pomembno vplival na zaznavanje, zlasti pri skupinah z različnimi prehranskimi navadami. Podobno sta ugotovila Apostolidis in McLeay (2016), ki sta pokazala, da potrošniki pogosto oblikujejo zaznavo prehranske ustreznosti na podlagi dolžine seznama sestavin, ne glede na dejansko hranilno sestavo. Ares in sod. (2011) so v raziskavi pokazali, da dolgi sezname sestavin in neznane sestavine zmanjšujejo zaupanje v izdelek, zlasti pri omnivorih. Po drugi strani pa vegani in vegetarijanci pogosto izkazujejo višjo senzibilnost za sestavine živalskega izvora, kot tudi za etične in okoljske pomisleke, kar vpliva na njihovo zaznavanje prehranske ustreznosti živil, tudi če izdelki vsebujejo več aditivov (Hartmann in Siegrist, 2017).

Opazna razlika med skupinami glede pomena sestavin v primerjavi s hranilnimi vrednostmi se sklada z ugotovitvami Egnell in sod. (2018), ki so poročali, da potrošniki pogosto vrednotijo živila na podlagi sestavin, četudi niso nujno bolj hranilno ustrezna. Naši rezultati kažejo, da potrošniki pogosto enačijo dolg seznam sestavin z višjo stopnjo predelave in posledično slabšo kakovostjo izdelka, kar se ujema s kritičnimi stališči do visoko tehnološko obdelane hrane (Monteiro in sod., 2019).

5 ZAKLJUČEK

Rezultati raziskave so pokazali, da zaznavanje RN mleka in mlečnih izdelkov ni enoznačen, temveč ga zaznamuje preplet prehranskih navad, socialno-demografskih značilnosti in osebnih prepričanj. Ključni dejavniki, ki vplivajo na zaznavanje prehranske ustreznosti RN mleka in mlečnih izdelkov, so spol, starost in način prehranjevanja. Ženske in mlajši anketiranci so RN mleka in mlečnih izdelkov pogosteje zaznavali kot zdravju koristne, medtem ko so bili omnivori bolj skeptični, predvsem glede hranilne sestave RN.

Način prehranjevanja se je izkazal za najmočnejši dejavnik, ki vpliva na zaznavanje RN mleka in mlečnih izdelkov. Vegani in vegetarijanci so pogosteje izražali zaupanje v zdravstvene koristi RN mleka in mlečnih izdelkov ter zaskrbljenost glede uporabe antibiotikov in hormonov v živinoreji. Zanimivo je bilo, da omnivori kljub večji skeptičnosti pogosteje posegajo po obogatenih različicah RN mleka in mlečnih izdelkov, kar kaže na njihovo večjo pozornost do hranilne vrednosti tovrstnih izdelkov.

Vrednotenje razumevanja označb na živilih je dodatno pokazalo, da potrošniki informacije o sestavinah pogosto ocenjujejo kot pomembnejše od hranilne vrednosti RN mleka in mlečnih izdelkov. Dolg seznam sestavin je pogosto razumljen kot indikator visoke tehnološke obdelave živila, kar znižuje zaznano kakovost izdelkov. Po drugi strani so vegani in vegetarijanci izkazali večjo toleranco do daljših seznamov sestavin, kar nakazuje, da njihov izbor temelji predvsem na osebnih prepričanjih.

Zaključimo lahko, da se zaznavanje prehranske vrednosti RN ne oblikuje zgolj na podlagi objektivnih informacij, temveč predvsem v interakciji s prepričanji, prehranskimi navadami in razumevanjem sestavin. Naša raziskava odpira pomembna vprašanja o prehranski pismenosti, razumevanju označb ter vlogi prehranskih vrednot pri oblikovanju prehranskih izbir. Ugotovitve prispevajo k boljšemu razumevanju vedenjskih vzorcev slovenskih potrošnikov in lahko predstavljajo osnovo za prihodnje strategije trženja, izobraževanja ter oblikovanja trajnostne prehranske politike.

6 VIRI

- Albert P. R. 2015. Why is depression more prevalent in women? *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 40, 4: 219–221.
- Apostolidis C., McLeay F. 2016. Should we stop meat like this? Reducing meat consumption through substitution. *Food Policy*, 65: 74–89.
- Ares G., Giménez A., Deliza R. 2011. Influence of three non-sensory cues on consumer choice of functional yoghurts over time. *Food Quality and Preference*, 22, 6: 581–591.
- Arkenau R., Bauer A., Schneider S. 2022. Gender differences in state body satisfaction, affect, and body-related attention patterns towards one's own and a peer's body: an Eye-Tracking Study with Women and Men. *Cognitive Therapy and Research*, 46: 735–746.
- Beacom E., Bogue J., Repar L. 2021. Market-oriented development of plant-based food and beverage products: a usage segmentation approach. *Journal of Food Products Marketing*, 27: 204–222.
- Bedford J. L., Barr S. I. 2005. Diets and selected lifestyle practices of self-defined adult vegetarians from a population-based sample suggest they are more 'health conscious'. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 2, 4.
- Burkert N. T., Muckenhuber J., Großschädl F., Rásky É., Freidl W. 2012. Nutrition and health – the association between eating behavior and various health parameters: a matched sample study. *PLOS ONE*, 7, 11: e45164.
- Chalupa-Krebsak S., Long C. J., Bohrer B. M. 2018. Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives. *Food Science and Nutrition*, 6, 4: 979–990.
- Curtain F., Grafenauer S. 2019. Plant-based milk alternatives in Australia: a review of composition, nutrition and labelling. *Nutrients*, 11, 11: 2653.
- De Oliveira Padilha L.G., Malek L., Umberger W.J. 2022. Consumers' attitudes towards lab-grown meat, conventionally raised meat and plant-based protein alternatives. *Food Quality and Preference*, 99: 104573.
- Denver S., Nordström J., Christensen, T. 2023. Plant-based food-purchasing intentions, barriers and drivers among different organic consumer groups in Denmark. *Journal of Cleaner Production*, 419: 138256.
- Dobersek U., Wy G., Adkins J., Altmeyer S., Krout K., Lavie C. J. 2021. Meat and mental health: A systematic review of meat abstinence and depression, anxiety, and related phenomena. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 614: 622–635.
- Egnell M., Talati Z., Hercberg S., Pettigrew S., Julia C. 2018. Objective understanding of front-of-package nutrition labels: An international comparative experimental study across 12 countries. *Nutrients*, 10, 10: 1542.
- FAO. 2018. Sustainable food systems: Concept and framework. Food and Agriculture Organization of the United Nations, <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/b620989c-407b-4caf-a152-f790f55fec71/content> (17. apr. 2025)
- Feraco A., Armani A., Amoah I., Guseva E., Camajani E., Gorini S., Strollo R., Padua E., Caprio M., Lombardo M. 2024. Assessing gender differences in food preferences and physical activity: A population-based survey. *Frontiers in Nutrition*, 11: 1348456.
- Fran. 2025. Nadomestek. Slovar slovenskega knjižnega jezika, <https://fran.si/iskanje?View=1&Query=nadomestek> (17. apr. 2025)
- Giacalone D., Clausen M. P., Jaeger S. R. 2022. Understanding barriers to consumption of plant-based foods and beverages. *Current Opinion in Food Science*, 48: 100919.
- Haas R., Schnepfs A., Pichler A., Meixner O. 2019. Cow milk versus PBM substitutes: a comparison of product image and motivational structure of consumption. *Sustainability*, 11, 18: 5046.
- Haghighatdoost F., Mahdavi A., Mohammadifard N., Hassannejad R., Najafi F., Farshidi H., Lotfizadeh M., Kazemi T., Karimi S., Roohafza H., Silveira E. A., Sarrafzadegan N. 2023. The relationship between a plant-based diet and mental health: Evidence from a cross-sectional multicentric community trial (LIPOKAP study). *PLOS ONE*, 18, 5: e0284446.

- Hartmann C., Siegrist M. 2017. Consumer perception and behaviour regarding sustainable protein consumption: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 61: 11–25.
- He J., Sun S., Zickgraf H. F., Lin Z., Fan X. 2020. Meta-analysis of gender differences in body appreciation. *Body Image*, 33: 90–100.
- Jaeger S.R., Giacalone D. 2021. Barriers to consumption of plant-based beverages: A comparison of product users and non-users on emotional, conceptual, situational, conative and psychographic variables. *Food Research International*, 144: 110363.
- Jeske S., Zannini E., Arendt E. K. 2017. Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72: 26–33.
- Knez Hrnčič M., Cör D., Knez Ž. 2021. Chapter 13 - Food, nutrition, and health in Slovenia. Nutritional and health aspects of food in the Balkans. V: *Traditional and Ethnic Food Series*. Elsevier, 207–225
- Lane M. M., Davis J. A., Beattie S., Gómez-Donoso C., Loughman A., O’Neil A., Jacka F., Berk, M., Page R., Marx W. 2021. Ultraprocessed food and chronic noncommunicable diseases: A systematic review and meta-analysis of 43 observational studies. *Obesity Review*, 22.
- Lawrence A. S., Huang H., Johnson B. J., Wycherley T. P. 2023. Impact of a switch to plant-based foods that visually and functionally mimic animal-source meat and dairy milk for the Australian population—a dietary modelling study. *Nutrients*, 15: 1825
- Lee H., Lee D., Choi J. W., Moon J. 2024. Understanding the consumption of plant-based drink in south korea: drinking situations and food pairings. *Journal of International Food & Agribusiness Marketing*, 1–25
- Martínez-Padilla E., Faber I., Petersen I. L., Vargas-Bello-Pérez E. 2023. Perceptions toward plant-based milk alternatives among young adult consumers and non-consumers in Denmark: an exploratory study. *Foods*, 12, 2: 385
- Medawar E., Huhn S., Villringer A., Witte A. V. 2021. The effects of plant-based diets on the body and the brain: A systematic review. *Clinical Nutrition*, 40, 9: 3781–3798.
- Meybeck A., Gitz V. 2017. Sustainable diets within sustainable food systems. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76, 1: 1–11
- Mekanna A. N., Issa A., Bogueva D., Bou-Mitri C. 2024. Consumer perception of plant-based milk alternatives: systematic review. *International Journal of Food Science and Technology*, 59: 8796–8805
- Michel F., Hartmann C., Siegrist M. 2021. Consumers’ associations, perceptions and acceptance of meat and plant-based meat alternatives. *Food Quality and Preference*, 87: 104063.
- Michalak J., Zhang X. C., Jacobi F. 2012. Vegetarian diet and mental disorders: results from a representative community survey. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 9: 67.
- Monteiro C. A., Cannon G., Moubarac J.-C., Levy R. B., Louzada M. L. C., Jaime P. C. 2019. Ultra-processed foods: What they are and how to identify them. *Public Health Nutrition*, 22, 5: 936–941.
- Neufingerl N., Eilander A. 2021. Nutrient Intake and Status in Adults Consuming Plant-Based Diets Compared to Meat-Eaters: A Systematic Review. *Nutrients*, 14,1: 29.
- Nezlek J. B., Forestell C. A. 2024. Recent Increases in Vegetarianism May Be Limited to Women: A 15-Year Study of Young Adults at an American University. *Appetite*, 187: 106586.
- Pointke M., Pawelzik E. 2022a. Plant-based alternative products: Are they healthy alternatives? Micro- and macronutrients and nutritional scoring. *Nutrients*, 14: 601.
- Pointke M., Ohlau M., Risius A., Pawelzik E. 2022b. Plant-based only: investigating consumers' sensory perception, motivation, and knowledge of different plant-based alternative products on the market. *Foods*, 11: 2339.
- Profeta A., Baune M. C., Smetana S., Broucke K., Van Royen G., Weiss J., Hieke S., Heinz V., Terjung N. 2021. Consumer preferences for meat blended with plant proteins—Empirical findings from Belgium. *Future Foods*, 4: 100088.
- Rosenfeld D. L., Tomiyama A. J. 2021. Gender differences in meat consumption and openness to vegetarianism. *Appetite*, 166: 105475.
- Sabaté J., Soret S. 2014. Sustainability of plant-based diets: back to the future. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100: 476S–482S
- Saerens W., Smetana S., Van Campenhout L., Lammers V., Heinz V. 2021. Life cycle assessment of burger patties produced with extruded meat substitutes. *Journal of Cleaner Production*, 306: 127177.
- Schiano A. N., Harwood W.S., Gerard P. D., Drake M. A. 2020. Consumer perception of the sustainability of dairy products and plant-based dairy alternatives. *Journal of Dairy Science*, 103: 11228–11243.

- Schuch J. J., Roest A. M., Nolen W. A., Penninx B. W., De Jonge P. 2014. Gender differences in major depressive disorder: Results from the Netherlands study of depression and anxiety. *Journal of Affective Disorders*, 156: 156–163.
- Sethi S., Tyagi S. K., Anurag R. K. 2016. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 9: 3408–3423.
- Smetana S., Profeta A., Voigt R., Kircher C., Heinz V. 2021. Meat substitution in burgers: Nutritional scoring, sensorial testing, and life cycle assessment. *Future Foods*, 4: 100042.
- Sogari G., Caputo V., Petterson J., Mora C., Boukid F. 2023. A sensory study on consumer valuation for plant-based meat alternatives: What is liked and disliked the most? *Food Research International*, 169: 112813.
- Statista. 2025a. Global plant-based food market value from 2022 to 2030, <https://www.statista.com/statistics/1280394/global-plant-based-food-market-value/> (17. apr. 2025)
- Statista. 2025b. Plant-based milk and dairy alternatives in Europe, <https://www.statista.com/study/121869/milk-and-dairy-alternatives-in-europe/> (17. apr. 2025)
- Su W., Zhang Y.Y., Li S., Sheng J. 2024. Consumers' preferences and attitudes towards plant based milk. *Foods*, 13, 2
- Szejda K., Urbanovich T., Wilks M. 2021. Accelerating consumer adoption of plant-based meat: An evidence-based guide for effective practice. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5: 720135.
- Vanga S. K., Raghavan V. 2018. How well do plant-based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *Journal of Food Science and Technology*, 55, 1: 10–20.
- Vatanparast H., Islam N., Shafiee M., Ramdath D. D. 2020. Increasing plant-based meat alternatives and decreasing red and processed meat in the diet differentially affect the diet quality and nutrient intakes of Canadians. *Nutrients*, 12: 2034.
- von Koerber K., Bader N., Leitzmann C. 2017. Wholesome Nutrition: an example for a sustainable diet. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76, 1: 34–41

VARNA HRANA V DOBI MIKROPLASTIKE

Anja KLANČNIK¹, Živa KOLENC², Tina ŠAULA³, Sonja SMOLE MOŽINA⁴, Manca KOVAČ VIRŠEK⁵ in Andreja RAJKOVIĆ⁶

Povzetek: Mikroplastika so delci plastike, manjši od 5 mm. V okolju se prenaša med ekosistemi. Leta 2022 je Svetovna zdravstvena organizacija izpostavila možne poti prenosa in vnosa delcev mikroplastike v človeško telo, in sicer preko zraka in kože ter tudi preko hrane in pitne vode. Mikroplastiko so dokazali v številnih živalih in različnih živilih. Zaradi pomanjkanja standardiziranih analitičnih metod raziskovalci sami uvajajo metode za izolacijo, detekcijo in karakterizacijo mikroplastike v morskem in zemeljskem ekosistemu, od katerih je le nekaj usmerjenih na področje hrane. Prisotnost mikroplastike v prehranski verigi lahko vpliva na kemijsko in mikrobiološko varnost živil. Zaradi svoje organske sestave mikroplastika omogoča pritrjevanje ostankov hrane ter različnih organskih in anorganskih delcev ter ob ustrezni vlažnosti razvoj kompleksne, t.i. plastisfere. To velja tudi v okolju proizvodnje hrane, kjer mikroplastika na ta način povečuje površino za naseljevanje mikrobnih biofilmov. Sočasna prisotnost hranil nudi ugodno okolje za rast biofilmov, mobilni delci mikroplastike pa njihovo širjenje. Biofilmi na površini mikroplastike tako lahko postanejo vektorji za prenos mikrobnih kontaminacij in okužb. Zato mikroplastika predstavlja potencialno tveganje za mikrobiološko varnost in je lahko vir mikrobnih kontaminacij ter okužb v živilski industriji in celotni verigi preskrbe s hrano.

Ključne besede: plastika, mikroplastika, živila, mikroplastika kot vektor prenosa mikroorganizmov, biofilm

SAFE FOOD IN THE AGE OF MICROPLASTICS

Abstract: Microplastics are plastic particles that are smaller than 5 mm. In the environment, microplastics are transferred between ecosystems. In 2022, the World Health Organization pointed out possible transmission routes of microplastics and their penetration into the human body — through the air, through skin contact, through food and through drinking water. Microplastics have been detected in numerous animals and various foods. Due to the lack of standardized analytical methods, researchers are developing their own approaches to isolate, detect and characterize microplastics in marine and terrestrial ecosystems, with only a few focusing on the food sector. The presence of microplastics in the food chain can affect both chemical and microbiological food safety. Due to their organic structure, microplastics can bind food residues, various organic and inorganic particles providing humid and nutritious environment for complex plastisphere development. This is particularly important in food production, where microplastics increase the surface area for the formation of microbial biofilms, as food particles provide favorable conditions for the growth of microorganisms. Mobile microplastic particles and biofilms in their plastisphere can become vectors for microbial contamination and infection. Microplastics therefore represent a potential microbiological hazard and a source of contamination and infection in the food industry and along the whole food supply chain.

Keywords: plastic, microplastic, food, microplastic as a vector for microbial transmission, biofilms

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

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

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

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

⁵ dr., Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 121, Ljubljana, Slovenija, e-mail: manca.kovac.virsek@nib.si

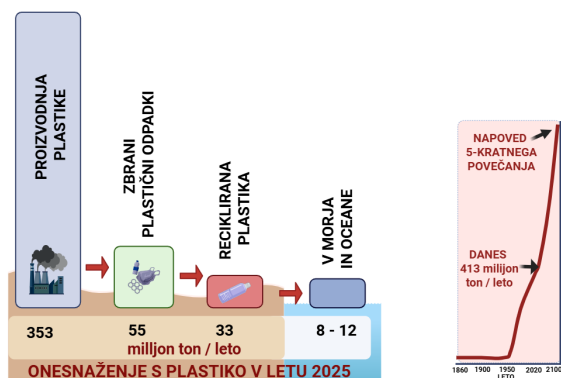
⁶ prof. dr., Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Ghent, Belgium, e-mail: Andreja.Rajkovic@UGent.be

1 UVOD

Kemik Leo Baekeland je leta 1907 s sintezo bakelita začel »dobo plastike« (Evode in sod., 2021). Plastika je hitro postala ključni material sodobne družbe, a tudi vse pomembnejši vir okoljskih in zdravstvenih tveganj. Prve prisotnosti mikroplastike so znanstveniki zaznali že v 70. letih 20. stoletja; danes pa vemo, da so delci, manjši od 5 mm, prisotni v vodi, zraku, tleh in živilski verigi. Zaradi njihove vseprisotnosti in možnega vpliva na zdravje ljudi in ekosisteme mnogi to obdobje označujejo kot začetek »dobe mikroplastike«. Prisotnost mikroplastike odpira pomembna vprašanja o varnosti hrane, saj lahko predstavlja kemijsko in mikrobiološko tveganje za potrošnike. Zaradi sodobnega načina življenja onesnaženost okolja z mikroplastiko postaja vse večja ovira pri ohranjanju zdravega življenjskega okolja in s tem tudi našega zdravja (EFSA, 2016).

2 PLASTIKA IN MIKROPLASTIKA

Plastika je zaradi svoje lahкости in trpežnosti, ki jo naredita idealno za različne uporabe, ključni material v sodobni družbi. Plastika je sintetični ali polysintetični material, pridobljen s polimerizacijo organskih ogljikovih spojin. Plastičen predmet je sestavljen iz polimernih ogljikovih verig ter se ob upogibu ne zlomi - je plastičen. Vsesplošno uporabljana plastika je obdelana z vrsto kemikalij (Lambert in Wagner, 2018). Osnovnim surovinam, ki so pridobljene s posebnimi kemičnimi procesi, imenovanimi polimerizacija, proizvajalci dodajo različne kemične snovi (npr. antioksidante, stabilizatorje, antistatike, plastifikatorje), s katerimi plastiki zagotovijo želene lastnosti, kot so prožnost, trdnost, odpornost proti toploti, mrazu, maščobi, kislinam, neprepustnost in druge. Vsako leto se proizvede približno 370 milijonov ton plastike (slika 1). Znanstveniki ocenjujejo, da je človeštvo do sedaj proizvedlo približno 8,3 milijarde ton plastike. Od te količine je 6,3 milijarde ton plastike že postalo odpadke, od tega večji del neuporabljene plastike konča na odlagališčih (79 %) ali se sežge, kar prispeva k emisijam toplogrednih plinov, del pa se nekontrolirano kopiči v naravnem okolju (Plastics Europe, 2024).



Slika 1: Onesnaženje s plastiko in mikroplastiko ter napoved za leto 2100 (priprajeno po Ha in Schleiger, 2021).

Prekomerna proizvodnja in potrošnja, zlasti plastike za enkratno uporabo in mikroplastike, predstavljata več kot 90 % onesnaževanja, saj je večino te plastike težko ali nevarno reciklirati. Plastika v okolju se nato fragmentira v delce različnih velikosti, vendar so tudi definicije različnih dimenzij delcev neenotne: (i) makroplastiko v velikosti nad 20 mm; (ii) mezoplastiko v velikosti od 5 do 20 mm; (iii) mikroplastiko v velikosti od 1 μ m do 5 mm; (iv) nanoplastiko v velikosti pod 1 μ m. Velikost se nanaša na največjo dolžino delca v najdaljši dimenziji. Mikroplastiko delimo še na majhno v velikosti od 1 μ m do 1 mm in veliko v velikosti od 1 do 5 mm (Dey in sod., 2024; ISO, 2023; Direktorat za okolje - EU, 2023).

V obliki vlaken, nepravilnih fragmentov, pene, filmov, zrn, redkeje sfer, je prisotna v vseh ekosistemih, kar povzroča okoljske probleme, kot je onesnaženje rek in oceanov, škoda za divje živali in kontaminacija vode, zraka ter hrane (Janani in sod., 2024; Thompson in sod., 2024). Mikroplastiko razdelimo v dve kategoriji. Primarno mikroplastiko proizvedemo namensko in predstavlja surovino pri izdelavi predmetov ali za neposredno uporabo v kozmetičnih izdelkih (Lambert in Wagner, 2018). Sekundarna mikroplastika nastane po razpadu plastičnih

odpadkov, ki se sčasoma zaradi vremenskih vplivov in pod vplivom abiotskih in biotskih dejavnikov razkrojijo na mikroplastiko (<5 mm) (So in sod., 2022; Thompson, 2015; Thompson in sod., 2024).

Leta 1988 je Zveza industrije plastike (SPI) uvedla razvrstitev plastičnih izdelkov v sedem skupin, pri čemer so simboli prvotno namenjeni recikliranju, a tudi pomagajo pri identifikaciji vrste plastike (Preglednica 1) (Society of the Plastics Industry, 2022). To je koristno za razumevanje lastnosti plastike, še posebej pri stiku z živili. Plastični izdelki, namenjeni za stik z živili (kot so krožniki in pribor), morajo nositi oznako "za stik z živili" ali simbol vilic in kozarca. Pri izbiri vrečk za živila je pomembno preveriti, ali imajo oznako za stik z živili. V trgovinah so pogosto na voljo različne vrste vrečk - za gospodinjstvo in za živila, pri čemer so le slednje označene kot primerne za neposredni stik z živili.

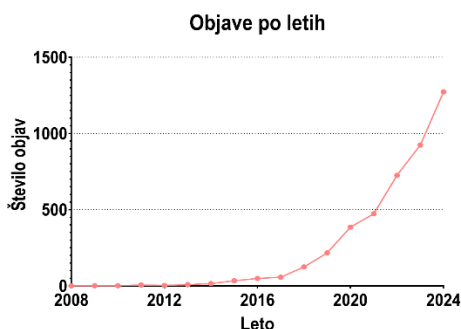
Preglednica 1: Razvrstitev plastičnih izdelkov v skupine (Society of the Plastics Industry, 2022).

Skupine plastike	Kratice	Uporaba
Polietilen tereftalat	PET/PETE	Plastenke za gazirane pijače in vodo, rastlinska olja, sokovi
Polietilen visoke gostote (<i>high-density polyethylene terephthalate</i>)	HDPE	Izdelki s krajšim rokom trajanja (npr. mleko), nakupovalna vrečka, lončki za jogurte ali maslo
Polivinil klorid	PVC	Plastenka za olja, krčljiva folija
Polietilen nizke gostote (<i>low-density polyethylene terephthalate</i>)	LDPE	Vreča za kruh in zamrznjeno hrano, krčljiva folija
Polipropilen	PP	Lončki za jogurte, embalaža za sirup, paradižnikovo mezgo, slamice
Polistiren	PS	Krožniki, lončki, jedilni pribor, pladnji za meso, plastična embalaža za jajca
Drugo		Polikarbonatna plastika za plastične steklenice za dojenčke in drugo

Eno izmed prvih poročil o mikroplastiki v znanstveni literaturi je bilo delo britanskega znanstvenika Edwarda A. Friemana, ki je leta 1972 poročal o majhnih plastičnih delcih v Atlantskem oceanu (Carpenter in Smith, 1972). V zadnjih dveh desetletjih pa so znanstveniki in okoljevarstveniki začeli bolj podrobno preučevati širjenje mikroplastike, a pomanjkanje usklajenega vzorčenja brez dodatne kontaminacije iz drugih virov otežuje pridobivanje zanesljivih raziskovalnih ugotovitev.

3 MIKROPLASTIKA V ŽIVILSKI VERIGI

Mikroplastika se v okolju prenaša med ekosistemi, v človeško telo pa prehaja z vdihavanjem, zaužitjem ali preko kože in sluznic (Cox in sod., 2019). Kot je razvidno iz slike 2, število raziskav s področja mikroplastike in hrane v zadnjih desetih letih eksponentno narašča.



Slika 2: Število objav s področja mikroplastike in hrane skozi leta. Literaturo smo pregledali v podatkovni bazi Scopus (<https://www.scopus.com/>) na podlagi naslova, povzetka in ključnih besed z izrazom "microplastic* and food". Obdobje objav smo omejili do vključno leta 2024.

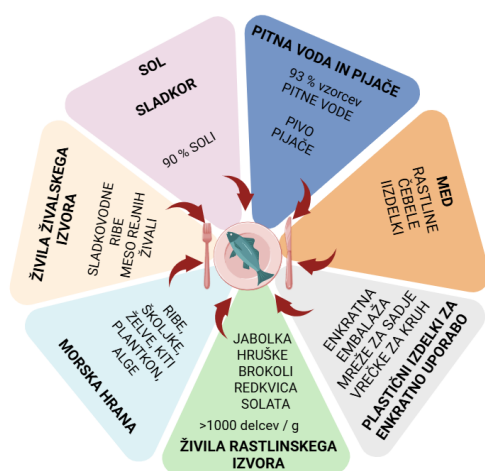
Mikroplastiko so dokazali v različnih morskih in sladkovodnih organizmih (npr. želvah, morskih pticah, v ribah, raki, školjkah, črvih) in mesu različnih živali (npr. piščanci, govedo, prašiči), preko katerih dosežejo človeško telo. Huerta Lwanga in sod. (2017) so dokazali kroženje mikroplastike na kmetijskem zemljišču, pri čemer je

koncentracija mikroplastike naraščala od najnižje v tleh ($0,87 \pm 1,9$ delcev/g) do srednje v kmetijskih pridelkih in najvišje v piščančjih iztrebkih ($129,8 \pm 82,3$ delcev/g). Raziskovalci so določili tudi prisotnost mikroplastike v piščančjih želodčkih, črevesju in blatu; saj se perutninski gnoj uporablja za kompostiranje ostalih kmetijskih poljščin. Nedavna raziskava (Wu in sod., 2021) je uporabo prašičjega in perutninskega gnoja predstavila kot novo tveganje prenosa mikroplastike iz kmetijskih zemljišč do ljudi.

Trenutna zakonodaja še ne zahteva monitoringa onesnaženja z mikroplastiko v hrani. Eden od konkretnih ukrepov, ki pa so povezani tudi z živilstvom oz. verigo preskrbe s hrano, je bila prepoved uporabe plastičnih vrečk oz. vrečk za enkratno uporabo. To prepoved je Evropska unija spodbujala že od leta 2015, v veljavo pa je stopila v letu 2021. Te smernice so zajemale prepoved oz. zamenjavo tudi različnih plastičnih izdelkov, kot so vatrane palčke, jedilni pribor, slamice in plastični krožniki ter spodbudila vpeljavo njihovih alternativ (Directive 2019/904/EU, 2019).

Prav tako ni podatkov o onesnaženju z mikroplastiko v hrani v Evropi, saj so skoraj vse objavljene raziskave izvedli na Kitajskem. Leta 2019 je skupina znanstvenikov iz Evrope samoiniciativno pripravila poročilo o tveganjih onesnaženja z mikroplastiko za okolje in zdravje ljudi. V poročilu so poudarili, da se premalo zavedamo prisotnosti mikroplastike v zraku, vodi in tleh, ter pozvali EU naj se odzove z ukrepi, ki bi zmanjšali obstojnost plastike v okolju, kopičenje mikroplastike v živih organizmih ter njen vstop v prehranjevalno verigo ljudi (Group of Chief Scientific Advisors, 2019). V zaključku poročila so poudarili, da imamo malo oz. skoraj nič znanja o tem, kako škodljiva je mikroplastika za okolje in za zdravje ljudi (SAPEA, 2019).

Določanje mikroplastike v živilih je novo področje. Kljub številnim preglednim študijam o tveganjih je izvirnih znanstvenih člankov malo, predvsem zaradi neustrezno opremljenih laboratorijev ter nestandardiziranih metod, ki so trenutno povzete iz raziskav okoljskih vzorcev in niso vse ustrezno prilagojene živilom (Kadac-Czapska in sod., 2023; McIlwraith in sod., 2025; Rozman in Kalčíková, 2022; Tavelli in sod., 2022). Natančne vsebnosti mikroplastike v živilih še preučujejo, pri čemer ostajajo analitske metode in standardizacija ključni izziv (ISO, 2020). Kljub temu študije kažejo, da so nekatera živila bolj izpostavljena kontaminaciji zaradi načina pridelave, predelave, pakiranja, priprave in uživanja (Food Safety Authority, 2016; Sewwandi in sod., 2023). Na sliki 3 so prikazana živila, v katerih so znanstveniki že raziskovali prisotnost mikroplastike. V letu 2022 je Svetovna zdravstvena organizacija predstavila možne poti prenosa in vnosa delcev mikroplastike iz okolja v človeško telo. Izpostavila je poti prenosa preko zraka in kože ter tudi preko hrane in pitne vode (WHO, 2022).



Slika 3: Mikroplastika na našem krožniku.

Sveže sadje (npr. jabolko) in zelenjava (npr. korenje) sta lahko kontaminirana preko tal, komposta ali zraka, saj se zaužijeta brez toplotne obdelave (Oliveri Conti in sod., 2020). Koncentracija mikroplastike v sadju je posledica visoke viskoznosti sadne kaše, velikosti in kompleksnosti koreninskega sistema ter starosti sadnega drevja v primerjavi z zelenjavnimi rastlinami. Živila, pakirana v plastično embalažo, zlasti ob izpostavljenosti visokim

temperaturam ali dolgotrajnemu skladiščenju, lahko vsebujejo mikroplastiko (Udovicki in sod., 2022). Kontaminaciji so izpostavljena tudi mleta živila (npr. moka, kava, začimbe) med procesi sušenja, mletja in pakiranja. Mikroplastiko pogosto zaznamo tudi v soli in sladkorju, ki ju uživamo vsakodnevno, kar pomeni vsakodnevno izpostavljenost (Karami in sod., 2017). Vsebnost mikroplastike je bila potrjena v nekaterih vzorcih medu, piva ter morske soli (Díaz-Basantes in sod., 2020; Mason in sod., 2018; Pironti in sod., 2021; Sewwandi in sod., 2023; Thiele in sod., 2021). Mikroplastiko so dokazali tudi v sadju in zelenjavi (Oliveri Conti in sod., 2020) ter izpostavili predvsem jabolka in korenje (slika 3).

Najvišje koncentracije so bile ugotovljene v mleku v prahu (do 1.004.000 delcev/L) in surovem mleku (do 625.000 delcev/L) (Da Costa Filho in sod., 2021). Zelo visoke vsebnosti so bile izmerjene tudi v rižu (15.360 ± 4.790 delcev/kg) in soli (do 26.270 ± 3.000 delcev/kg) (Luqman in sod., 2021). Ta raznovrstna prisotnost kaže na stalen prehranski vnos mikroplastike, kar sproža zaskrbljenost glede možnih učinkov na zdravje ljudi (Eerkes-Medrano in sod., 2015; Kukkola in sod., 2024). Voda v plastenkah je vsebovala več kot tisoč delcev/l, podobne vrednosti, kot so bile zaznale v ribah. Prisotnost mikroplastike v fermentiranih izdelkih pa nakazuje predvsem kontaminacijo že med predelavo in pakiranjem (Luqman in sod., 2021). Že leta 2020 so določili med 4 in 18,7 delcev/kg pakiranega mesa (Kedzierski in sod., 2020), kar poudarja potrebo po boljši kontroli materialov v stiku z živili. Takšne ugotovitve potrjujejo, da mikroplastika ni omejena na morske vire, temveč je razširjena po živilski verigi (WHO, 2022).

Veliko tveganje predstavljajo morski sadeži, zlasti školjke, ki filtrirajo vodo in se pogosto zaužijejo cele, s čimer pride do neposrednega vnosa mikroplastike. Tudi naša raziskava (Kolenc in sod., 2024), v kateri smo spremljali prisotnost mikroplastike v obalni morski vodi in sredozemskih školjk (*Mytilus galloprovincialis*) v severnem Jadranskem morju, razkriva pomembne posledice za zdravje morskih ekosistemov in varnost hrane. Prevladujoča kemijska vrsta mikroplastike v vzorcih morske vode so bili fragmenti polivinilklorida, v vzorcih iz školjk pa vlakna najlona in fragmenti polietilena.



Slika 4: Mikroplastika izolirana iz obalne morske vode in sredozemskih školjk (*Mytilus galloprovincialis*) na školjčni farmi pri Debelem rtiču (Kolenc in sod., 2024).

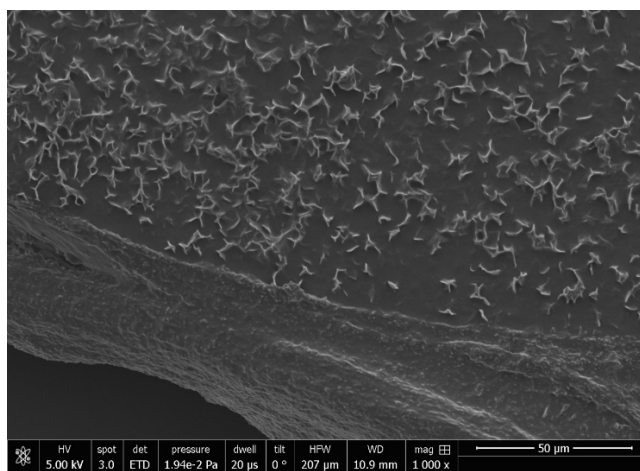
Poleg tega da so živila, bodisi surova ali pripravljena za uživanje, pogosto zapakirana v plastično embalažo, kar lahko prispeva k naknadni kontaminaciji živil z mikroplastiko (Eze in sod., 2024; Janani in sod., 2024), k tveganju kontaminacije hrane z mikroplastiko prispevajo tudi navade potrošnikov med pripravo obrokov. Površina plastičnih rezalnih desk se med sekanjem ali rezanjem lahko poškoduje, kar povzroči sproščanje delcev mikroplastike in potencialno onesnaženje živila (Yadav in sod., 2023).

4 MIKROPLASTIKA KOT VEKTOR ZA PRENOS MIKROORGANIZMOV

Mikroplastika v okolju ima negativni vpliv zaradi: (i) obstojnosti; (ii) pojavljanja v prehranjevalni verigi živali, (iii) prodiranja v tkiva pri uživanju hrane; (iv) kemijskega onesnaževanja, ki ga povzročajo toksični dodatki plastike, npr. motilci endokrinega sistema; (iv) prenosa drugih onesnaževanj, saj se lahko nanjo vežejo ftalati, alkilfenoli, kovine, obstojna organska onesnažila ali različne vrste mikroorganizmov (Dris in sod., 2015). Mikroplastika spodbuja bakterijske interakcije in tvorbo biofilmov v živilski proizvodnji ter predstavlja

zdravstveno tveganje zaradi svoje sestave, ki vključuje monomere, dodatke ter vezane onesnažila ali mikroorganizme (Food Safety Authority, 2016; International Organization for Standardization, 2020; Udovicki in sod., 2022). Tveganje dodatno povečujejo raznolike kemijske in fizikalne lastnosti mikroplastike ter njena mobilnost (Amaral-Zettler in sod., 2020; EFSA in ECDC, 2016; Tavelli in sod., 2022).

Tudi v naši raziskavi (Kolenc in sod., 2024) smo iz mikroplastike izolirali DNA ter določili prisotnost, raznolikost in relativno zastopanost mikroorganizmov. Kot prvi smo z metataksonomsko analizo regije 16S V3–4 določili mikrobno združbo na mikroplastiki iz školjk, in odkrili podobnosti med mikrobiomi mikroplastike iz morske vode in školjk. Identificirali smo več rodov bakterij in določili prevladujočo prisotnost rodu *Pseudomonas* (slika 5), nekaj morskih rodov, v manjših deležih pa tudi nekatere rodove, ki vsebujejo potencialno patogene vrste, kot sta *Serratia* in *Campylobacter*.



Slika 5: Bakterijski biofilm na mikroplastiki. Koščke polietilenske plastike (5 mm × 5 mm) smo potopili v bakterijsko suspenzijo *Pseudomonas aeruginosa* v bujon Mueller-Hinton pri koncentraciji 105 CFU/mL in jih aerobno inkubirali pri 37 °C 48 ur. Za SEM smo vzorce pripravili po postopku za pripravo biološkega materiala (3 % glutaraldehydu v 0,1 M PB pH 7,2; postfiksacija v 1 % m/v osmijevem tetroksidu). Vzorce smo dehidrirali z etanolom in heksametilidisilazanom (HMDS) in sušili na zraku pri sobni temperaturi. Suhe vzorce smo namestili na aluminijaste nosilce s karbonskim trakom, naparili z zlatom v argonski atmosferi (Q150R ES Sputter and Carbon Coater; Quorum Technologies Ltd.) in pregledali z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM FEI Quanta 250 (FEI Company, ZDA). Avtorja: Jaka Levanič in Živa Kolenc.

Raziskava potrjuje, da mikroplastika ni zgolj onesnažilo, temveč tudi vektor za prenos mikroorganizmov ter ozavešča o negativnih vplivih onesnaženja z mikroplastiko v morskih okoljih na zdravje ljudi (Kolenc in sod., 2024).

Biofilmi, naseljeni na mikroplastiki, t.i. plastisfera, so mobilne združbe raznolikih mikroorganizmov, ki lahko postanejo vektor prenosa mikrobnih kontaminacij in okužb. Na površini materialov v proizvodnji hrane pri neustreznem čiščenju nastane sloj, sestavljen iz ostankov hrane ter organskih ali anorganskih delcev. Mikroplastika, ki je v proizvodnji prisotna, se v sloj vključi; hkrati pa sloj nastane tudi na mikroplastiki. Bakterije, ki so del mikrobiote prebavil, se preko ireverzibilnih vezi in hidrofobnih interakcij pritrdijo na sloj, celice agregirajo, proizvedejo zunajcelične polimerne snovi in tvorijo biofilm (Wu in sod., 2021). Postopki čiščenja in dezinfekcije biofilm na sloju le delno odstranijo, pri čemer lahko biofilm naseljen na mikroplastiki ostane nedotaknjen.

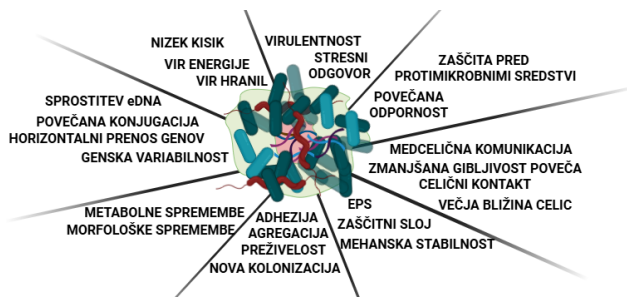
5 BIOFILMI BAKTERIJ *Campylobacter*

Prisotnost mikroplastike in plastisfere na njeni površini odpira novo možnost preživetja črevesnih bakterij, vključno z bakterijo *Campylobacter* v okolju proizvodnje hrane. Te bakterije imajo omejene mehanizme prilagoditve in so zelo občutljive na vse neugodne pogoje, predvsem koncentracijo kisika in temperaturo v okolju

izven črevesa. Že več kot desetletje pa so bakterije vrste *Campylobacter jejuni* glavni povzročitelji bakterijskih gastroenteritisov pri ljudeh v razvitem svetu (EFSA in ECDC, 2023). Ključna prilagoditev bakterij na specifična okolja je tvorba biofilmov, saj jih ti ščitijo pred neugodnimi pogoji. Majhni delci mikroplastike dajejo ogromno površino za tvorbo mikrobnih biofilmov, poleg tega pa omogočajo njihovo širjenje v okolju.

Leta 2022 je bilo prijavljenih 5.763 izbruhov bolezni, povezanih s hrano, vključno s smrtnimi primeri (EFSA in ECDC, 2023). Poleg tega je bila ugotovljena 44-odstotna letna rast izbruhov bolezni, povezanih z različnimi živali, kot so meso, mlečni izdelki, ribe in zelenjava (EFSA in ECDC, 2023). Najpogostejše prijavljena zoonoza v EU od leta 2005 dalje je kampilobakterioza, z 148.181 primeri v letu 2023, pri čemer je glavni vir okužbe meso. Zoonoze se prenašajo med živalmi in ljudmi po poteh, ki jih moramo nadzorovati, da zmanjšamo tveganje za bolezen (EFSA, 2024).

Glavne celične lastnosti, vpletene v biofilm, vključujejo morfologijo, membrano, metabolizem maščobnih kislin, znotrajcelični transport, šaperone, hidrofobnost, zaznavanje medcelične komunikacije, agregacijo, stresni odgovor in tvorbo zunajceličnega polimernega matriksa (Jug in sod., 2024; Klančnik in sod., 2021; Jug in sod., 2022; Smole Možina in sod., 2013; Pavlinjek in sod., 2024). Razvoj biofilmov pri *C. jejuni* na različnih površinah je še vedno slabo raziskan, predvsem vključeni molekularni mehanizmi razvoja biofilmov (Klančnik in sod., 2018, 2020) znani pri drugih bakterijah (slika 6).



Slika 6: Glavni procesi v biofilmu, naseljenem na mikroplastiki, s potencialnim vplivom na preživetje in širjenje bakterij v okolju.

Katedra za Biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil je ravnokar objavila študijo (Volk in sod., 2025), kjer smo s transkriptomsko analizo raziskovali dinamiko razvoja biofilma *C. jejuni* in kot ključne lahko izpostavimo prehod iz zgodnjih v zrele faze biofilma. Zgodnji biofilmi (po 16 in 24 urah) so pokazali povečano izražanje genov, vključenih v presnovo cisteina in metionina, medtem ko so zreli biofilmi (po 48 in 72 urah) kazali zmanjšano izražanje genov za kapsularne polisaharide in lipooligosaharide. Tako v zgodnjih kot zrelih biofilmih je bilo povečano izražanje genov, povezanih z nastankom bičkov, presnovo levcina in odzivom na oksidativni stres, ter zmanjšano izražanje genov, povezanih z energijsko presnovo, privzemom železa in transmembranskim transportom. Študija ponuja vpogled v molekularne mehanizme zorenja biofilma pri *C. jejuni*, njegovo odpornost na okoljske dejavnike ter dinamično naravo izražanja genov med razvojem biofilma (Volk in sod., 2025).

6 ZAKLJUČEK

Mikroplastika, opredeljena kot delci plastike, manjši od 5 mm v premeru, je razširjeno onesnažilo okolja, ki ima pomembne posledice za varnost hrane in prenos patogenov. Prisotna je v različnih živilih, vključno z morskimi sadeži, mlečnimi izdelki, sadju in zelenjavi, medu in mesu, ter lahko prenaša škodljive monomere, aditive in mikroorganizme. Vse večja je tudi zaskrbljenost, da deluje kot prenašalec povzročiteljev bolezni, kot je kampilobakterioza. Mikroplastika lahko poveča preživetje in prenos bakterij s tem, da omogoča tvorbo biofilma in pospešuje interakcije z drugimi mikroorganizmi. Trenutna zakonodaja ne zahteva spremljanja in vrednotenja mikroplastike v hrani, vendar je le vprašanje časa, kdaj bodo uvedeni konkretni ukrepi in s tem tudi ocenjevanje vsebnosti mikroplastike v hrani. Gre za novo znanstveno področje, kje bo potrebno postaviti osnovne metode za določanje prisotnosti mikroplastike v proizvodnih pogojih in končnih živilih, kar zahteva tesno sodelovanje z živilskimi tehnologiji, ki poznajo postopke pridelave, predelave, pakiranja ter sestavo živil.

7 ZAHVALA

Delo je omogočil projekt ARIS J4-4548 ter program P4-0116.

8 VIRI

- Amaral-Zettler L. A., Zettler E. R., Mincer T. J. 2020. Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology* 2020 18:3, 18, 3: 139–151, <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0308-0>
- Carpenter E. J., Smith K. L. 1972. Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Science*, 175, 4027: 1240–1241, <https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1240>
- Cox K. D., Covernton G. A., Davies H. L., Dower J. F., Juanes F., Dudas S. E. 2019. Human Consumption of Microplastics. *Environmental Science & Technology*, 53, 12: 7068–7074, <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517>
- Da Costa Filho P. A., Andrey D., Eriksen B., Peixoto R. P., Carreres B. M., Ambühl M. E., Descarrega J. B., Dubascoux S., Zbinden P., Panchaud A., Poitevin E. 2021. Detection and characterization of small-sized microplastics ($\geq 5 \mu\text{m}$) in milk products. *Scientific Reports*, 11, 1: 24046, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03458-7>
- Dey S., Veerendra G. T. N., Babu P. S. S. A., Manoj A. V. P., Nagarjuna K. 2024. Degradation of Plastics Waste and Its Effects on Biological Ecosystems: A Scientific Analysis and Comprehensive Review. *Biomedical Materials & Devices*, 2, 1: 70–112, <https://doi.org/10.1007/s44174-023-00085-w>
- Diaz-Basantes M. F., Conesa J. A., Fullana A. 2020. Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants. *Sustainability*, 12, 14: 5514, <https://doi.org/10.3390/su12145514>
- Direktorat za okolje. 2023. FUTURE BRIEF: Nanoplastics: state of knowledge and environmental and human health impacts – Issue 27. Evropska komisija.
- Dris R., Gasperi J., Rocher V., Saad M., Renault N., Tassin B. 2015. Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris. *Environmental Chemistry*, 12, 5: 592–599, <https://doi.org/10.1071/EN14167>
- Eerkes-Medrano D., Thompson R. C., Aldridge D. C. 2015. Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Research*, 75: 63–82, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.012>
- EFSA (European Food Safety Authority). 2016. Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA Journal*, 14, 6: e04501, <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2016.4501>
- EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2023. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 21, 12: e8442, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>
- European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, 2019. Environmental and health risks of microplastic pollution. Luxembourg: Publications Office of the European Union
- European Parliament and Council, 2019. Directive (EU) 2019/904 of 5 June 2019 on the reduction of the impact of certain plastic products on the environment. *Official Journal of the European Union*, L 155:1-19, <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2019/904/oj/eng> (12. maj 2025)
- Evode N., Qamar S. A., Bilal M., Barceló D., Iqbal H. M. N. 2021. Plastic waste and its management strategies for environmental sustainability. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 4: 100142, <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100142>
- Eze C. G., Nwankwo C. E., Dey S., Sundaramurthy S., Okeke E. S. 2024. Food chain microplastics contamination and impact on human health: a review. *Environmental Chemistry Letters* <https://doi.org/10.1007/s10311-024-01734-2>
- Ha M., Schleiger R. 2021. Data Dive- Plastic in World Oceans. *Environmental Science. Biology LibreTexts*, <https://bio.libretexts.org/@go/page/59515>. (12. maj 2025)
- Huerta Lwanga E., Mendoza Vega J., Ku Quej V., Chi J. de los A., Sanchez del Cid L., Chi C., Escalona Segura G., Gertsen H., Salánki T., van der Ploeg M., Koelmans A. A., Geissen V. 2017. Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7, 1: 1–7, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14588-2>
- ISO (International Organization for Standardization) 2020. ISO/TR 21960:2020: Plastics - Environmental aspects - State of knowledge and methodologies.
- ISO (International Organization for Standardization). 2023. ISO 24187:2023: Plastics - Microplastics - Detection and identification by thermogravimetry. <https://www.iso.org/standard/78033.html> (12. maj 2025)

- Janani R., Bhuvana S., Geethalakshmi V., Jeyachitra R., Sathishkumar K., Balu R., Ayyamperumal R. 2024. Micro and nano plastics in food: A review on the strategies for identification, isolation, and mitigation through photocatalysis, and health risk assessment. *Environmental Research*, 241: 117666, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117666>
- Jug B., Šikić Pogačar M., Sterniša M., Tumpej T., Karničar K., Turk D., Langerholc T., Sabotič J., Klančnik A. 2024. Modulation of *Campylobacter jejuni* adhesion to biotic model surfaces by fungal lectins and protease inhibitors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14: 1391758, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1391758>
- Jug D., Klančnik A., Možina S. S., Dogsa I. 2022. 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, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114439>
- Kadac-Czapska K., Trzebiatowska P. J., Knez E., Zaleska-Medynska A., Grembecka M. 2023. Microplastics in food - a critical approach to definition, sample preparation, and characterisation. *Food Chemistry*, 418: 135985, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135985>
- Karami A., Golieskardi A., Keong Choo C., Larat V., Galloway T. S., Salamatina B. 2017. The presence of microplastics in commercial salts from different countries. *Scientific Reports*, 7, 1: 46173, <https://doi.org/10.1038/srep46173>
- Kedzierski M., Lechat B., Sire O., Le Maguer G., Le Tilly V., Bruzard S. 2020. Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks. *Food Packaging and Shelf Life*, 24: 100489, <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100489>
- Klančnik A., Gobin I., Jeršek B., Smole Možina S., Vučković D., Žnidarič M. T., Abram M. 2020. Adhesion of *Campylobacter jejuni* Is Increased in Association with Foodborne Bacteria. *Microorganisms*, 8, 2: 201, <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020201>
- Klančnik A., Gobin I., Vučković D., Smole Možina S., Abram M., Jeršek B. 2018. Reduced contamination and infection via inhibition of adhesion of foodborne bacteria to abiotic polystyrene and biotic amoeba surfaces. *International Journal of Food Science & Technology*, 53, 4: 1013–1020, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13677>
- 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, 1: 55–84, <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09669-6>
- Kolenc Ž., Kovač Viršek M., Klančnik A., Janecko N. 2024. Microbial communities on microplastics from seawater and mussels: Insights from the northern Adriatic Sea. *The Science of the Total Environment*, 949: 175130, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175130>
- Kukkola A., Chetwynd A. J., Krause S., Lynch I. 2024. Beyond microbeads: Examining the role of cosmetics in microplastic pollution and spotlighting unanswered questions. *Journal of Hazardous Materials*, 476: 135053, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135053>
- Lambert S., Wagner M. 2018. Microplastics Are Contaminants of Emerging Concern in Freshwater Environments: An Overview. V: *Freshwater Microplastics : Emerging Environmental Contaminants?* Wagner M., Lambert S. (ur.). Cham, Springer International Publishing: 1–23, https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_1
- Luqman A., Nugrahapraja H., Wahyuono R. A., Islami I., Haekal M. H., Fardiansyah Y., Putri B. Q., Amalludin F. I., Rofiq E. A., Götz F., Wibowo A. T. 2021. Microplastic Contamination in Human Stools, Foods, and Drinking Water Associated with Indonesian Coastal Population. *Environments*, 8, 12: 138, <https://doi.org/10.3390/environments8120138>
- Mason S. A., Welch V. G., Neratko J. 2018. Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. *Frontiers in Chemistry*, 6: 407, <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00407>
- McIlwraith H. K., Lindeque P. K., Tolhurst T. J., Cole M. 2025. Positive controls with representative materials are essential for the advancement of microplastics research. *Microplastics and Nanoplastics*, 5, 1: 9, <https://doi.org/10.1186/s43591-025-00115-y>
- Oliveri Conti G., Ferrante M., Banni M., Favara C., Nicolosi I., Cristaldi A., Fiore M., Zuccarello P. 2020. Micro- and nano-plastics in edible fruit and vegetables. The first diet risks assessment for the general population. *Environmental Research*, 187: 109677, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109677>
- Pironti C., Ricciardi M., Motta O., Miele Y., Proto A., Montano L. 2021. Microplastics in the Environment: Intake through the Food Web, Human Exposure and Toxicological Effects. *Toxics*, 9, 9: 224, <https://doi.org/10.3390/toxics9090224>

- Pavlinjek N., Klančnik A., Sabotič J. 2024 Evaluation of physical and chemical isolation methods to extract and purify *Campylobacter jejuni* extracellular polymeric substances. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1488114: 1-12
- Rozman U., Kalčíková G. 2022. Seeking for a perfect (non-spherical) microplastic particle – The most comprehensive review on microplastic laboratory research. *Journal of Hazardous Materials*, 424: 127529, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127529>
- SAPEA (Science Advice for Policy by European Academies). 2019. A Scientific Perspective on Microplastics in Nature and Society. Berlin: Research Institute for Sustainability, <https://www.rifs-potsdam.de/en/output/publications/2019/sapea-science-advice-policy-european-academies-2019-scientific-perspective> (12. maj 2025)
- Sewwandi M., Wijesekara H., Rajapaksha A. U., Soysa S., Vithanage M. 2023. Microplastics and plastics-associated contaminants in food and beverages; Global trends, concentrations, and human exposure. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 317: 120747, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120747>
- Smole Možina S., Klančnik A., Raspor P. 2013. Mechanisms of microbial resistance in biofilms. V: *Biofilms in Bioengineering*. Simões M., Mergulhão F. (ur.). New York: Nova Science Publishers: 311-332.
- So M. W. K., Vorsatz L. D., Cannicci S., Not C. 2022. Fate of plastic in the environment: From macro to nano by macrofauna. *Environmental Pollution*, 300: 118920, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118920>
- Society of the Plastics Industry. 2022. Standard Practice for Coding Plastic Manufactured Articles for Resin Identification. ASTM D7611/7D7611M-21, https://store.astm.org/d7611_d7611m-21.html (12. maj 2025)
- Tavelli R., Callens M., Grootaert C., Abdallah M. F., Rajkovic A. 2022. Foodborne pathogens in the plastisphere: Can microplastics in the food chain threaten microbial food safety? *Trends in Food Science & Technology*, 129: 1–10, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.08.021>
- Plastics Europe. 2024. The Circular Economy for Plastics – A European Analysis 2024.
- The European Union One Health 2023 Zoonoses report. EFSA Journal. 2024. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2024.9106> (12. maj 2025)
- Thiele C. J., Hudson M. D., Russell A. E., Saluveer M., Sidaoui-Haddad G. 2021. Microplastics in fish and fishmeal: an emerging environmental challenge? *Scientific Reports*, 11, 1: 2045, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81499-8>
- Thompson R. C. 2015. Microplastics in the Marine Environment: Sources, Consequences and Solutions. V: *Marine Anthropogenic Litter*. Bergmann M., Gutow L., Klages M. (ur.). Cham, Springer International Publishing: 185–200, https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_7
- Thompson R. C., Courteney-Jones W., Boucher J., Pahl S., Raubenheimer K., Koelmans A. A. 2024. Twenty years of microplastic pollution research—what have we learned? *Science*, 386, 6720: ead12746, <https://doi.org/10.1126/science.adl2746>
- Udovicki B., Andjelkovic M., Cirkovic-Velickovic T., Rajkovic A. 2022. Microplastics in food: scoping review on health effects, occurrence, and human exposure. *International Journal of Food Contamination*, 9, 1: 7, <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00093-6>
- Volk M., Gundogdu O., Klančnik A. 2025. Temporal dynamics of gene expression during the development of *Campylobacter jejuni* biofilms. *Microbial Genomics*, 11, 5: 001387, <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001387>
- World Health Organization (WHO). 2022. Dietary and inhalation exposure to nano- and microplastic particles and potential implications for human health. Geneva: WHO 1–154, (11. 5. 2023)
- Wu R.-T., Cai Y.-F., Chen Y.-X., Yang Y.-W., Xing S.-C., Liao X.-D. 2021. Occurrence of microplastic in livestock and poultry manure in South China. *Environmental Pollution*, 277: 116790, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116790>
- Yadav H., Khan M. R. H., Quadir M., Rusch K. A., Mondal P. P., Orr M., Xu E. G., Iskander S. M. 2023. Cutting Boards: An Overlooked Source of Microplastics in Human Food? *Environmental Science & Technology*, 57, 22: 8225–8235, <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c00924>

PRESKRBLJENOST PREBIVALCEV SLOVENIJE Z USTREZNO ZALOGO HRANE

Nina KRIŽNIK¹, Jasna BERTONCELJ² in Tanja PAJK ŽONTAR³

Povzetek: Izredne razmere lahko privedejo do nenadnega pomanjkanja hrane, zato je ključnega pomena, da se prebivalstvo na takšne dogodke pravočasno in ustrezno pripravi. Cilj raziskave je bil preučiti ozaveščenost prebivalcev Slovenije o nacionalnih priporočilih za pripravo 30-dnevne nujne zaloge hrane, oceniti primernost zalog hrane v slovenskih gospodinjstvih glede na priporočila in opredeliti dejavnike, ki vplivajo na njihovo količino. V anketi je sodelovalo 815 prebivalcev Slovenije, starejših od 18 let. Rezultati ankete so pokazali, da 81,0 % prebivalcev ni seznanjenih s priporočili Uprave Republike Slovenije za zaščito in reševanje (URSZR) o nujni zalogi hrane. Vrednotenje zalog živil, ki jih za primer izrednih razmer priporoča URSZR, z vidika energijske in hranilne ustreznosti, je pokazalo, da bi bilo z zalogami mesec dni in več samozadostnih 17,0 % anketirancev in njihovih članov gospodinjstva. Le 19,1 % pa jih ima na zalogi tekočino (vodo in druge pijače) za 3 dni in več. Statistično značilno povezavo med količinami zalog hrane smo potrdili v primeru ocene samozadostnosti in samooskrbnosti, poznavanja nacionalnih priporočil za nujno zalogo hrane, tipa bivališča, regije, števila članov v gospodinjstvu ter števila otrok v gospodinjstvu. Izsledki raziskave poudarjajo potrebo po oblikovanju učinkovitih strategij in ukrepov za izboljšanje ozaveščenosti prebivalcev o nujni zalogi hrane, ki je bistvenega pomena za zagotavljanje prehranske varnosti v času kriznih razmer.

Ključne besede: izredne razmere, prehranska varnost, zaloga hrane, preskrbljenost, pripravljenost, gospodinjstvo

ADEQUATE FOOD SUPPLY OF THE SLOVENIAN POPULATION

Abstract: Emergency situations can lead to sudden food shortages, so it is important for the population to be adequately and proactively prepared for such events. The aim of the study was to assess the awareness of the Slovenian population regarding the official national recommendation for a 30-day emergency food supply, to evaluate the adequacy of households' food supply in accordance with these recommendations and to identify factors influencing their quantity. A survey was conducted among 815 Slovenian residents aged 18 years and older. The results showed that 81.0% of the population was not aware of the recommendations of the Administration of the Republic of Slovenia for Civil Protection and Disaster Relief (URSZR) regarding emergency food supplies. The assessment of emergency food supplies, recommended by the URSZR, based on energy and nutrients adequacy showed that 17.0% of respondents and their household members would be self-sufficient with their food supplies for a month or more. However, only 19.1% of Slovenian households have a supply of beverages (water and other drinks) for three days or longer. We found statistically significant correlations between the amount of supplies and the assessment of self-sufficiency, awareness of the national recommendations for emergency food supply, type of residence, region, number of household members and number of children in the household. The findings of the study underline the need to develop effective strategies and measures to raise public awareness of emergency food supplies, which are crucial for ensuring food security in times of crisis.

Keywords: emergency, food security, food supply, provision, preparedness, household

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: nina.kriznik95@gmail.com

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

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

1 UVOD

Danes večina prebivalcev Slovenije ne občuti skrbi glede oskrbe s hrano in vodo, saj je stalno dostopen širok nabor živilskih izdelkov v trgovinah, restavracijah in drugih prehranskih obratih postal samoumeven del vsakdana. Sodobni življenjski slog, ki se močno razlikuje od tistega, ki so ga imeli naši predniki le nekaj generacij nazaj, novodobni trendi in tehnologije so temeljito preoblikovali prehranski sistem, ki je postal vse bolj kompleksen in medsebojno prepleten (Gerhold in sod., 2019). Zaradi tega je sistem oskrbe s hrano postal izjemno ranljiv, saj lahko v primeru izrednih razmer, kot so poplave, potresi, epidemije in vojne, hitro pride do hudih motenj. Prehranska varnost postaja vse pomembnejša tema, ne le v Sloveniji in Evropi, temveč tudi globalno. Nedavne motnje v svetovnih dobavnih verigah, ki so jih povzročili pandemija covida-19, podnebne spremembe ter vojna v Ukrajini in Gazi, so jasno pokazale, kako krhek je lahko sodoben prehranski sistem (OECD, 2020; WHO, 2020, 2024).

V Sloveniji sicer obstajajo državne blagovne rezerve (ZRSBR, 2025), namenjene zagotavljanju osnovnih življenjskih potrebščin v kriznih razmerah, vendar je za lastno varnost v prvi vrsti odgovoren vsak posameznik (Zakon ..., 2006). Priporočila Uprave Republike Slovenije za zaščito in reševanje (URSZR) zato svetujejo, naj imajo gospodinjstva pripravljene zaloge hrane in vode za vsaj 30 dni (URSZR, 2025a). Vendar rezultati več do sedaj izvedenih študij nakazujejo na to, da zaloge v gospodinjstvih pogosto ne ustrezajo priporočilom (DeBastiani in sod., 2018; Levac in sod., 2011; Menski in sod., 2016; Miceli in sod., 2008; Rhein, 2019). Ljudje se namreč pogosto ne zavedajo nevarnosti izrednih razmer in lastne odgovornosti pri izvajanju preventivnih ukrepov.

Z raziskavo smo želeli preveriti, ali prebivalci Slovenije poznajo nacionalna priporočila za nujno zalogo hrane. Prav tako smo želeli oceniti, kakšne so zaloge hrane v slovenskih gospodinjstvih, ovrednotiti njihova odstopanja od priporočil ter ugotoviti, kateri dejavniki vplivajo na njihovo količino. Po nam znanih podatkih gre za prvo raziskavo te vrste v Sloveniji, izvedeno na reprezentativnem vzorcu.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 ANKETNI VPRAŠALNIK

Anketni vprašalnik je vseboval 19 vprašanj, razdeljenih v dva sklopa. V prvem smo obravnavali vprašanja o motivih za pripravo zalog hrane, oceno verjetnosti nastanka izrednih razmer in občutka ogroženosti, zaupanje v trg in državne institucije, poznavanje nacionalnih priporočil ter oceno količin zalog hrane. V drugem sklopu smo se osredotočili na socialno demografske spremenljivke, kot so velikost gospodinjstva, regija, tip bivališča in mesečni dohodek gospodinjstva. Anketa je vključevala vprašanja odprtega in zaprtega tipa. Pri vprašanjih iz prvega sklopa, razen tistih, ki so se nanašala na poznavanje nacionalnih priporočil in oceno količine zalog hrane, smo uporabili 5-stopenjsko Likertovo lestvico. Udeleženci so z njo ocenjevali stopnjo strinjanja s predhodno določenimi trditvami, pri čemer je lestvica segala od 1 (popolnoma se ne strinjam) do 5 (popolnoma se strinjam).

Anketo smo izvedli na spletu v sodelovanju z zunanjo raziskovalno agencijo, ki je poskrbela za reprezentativnost vzorca. V anketo je bilo vključenih 815 prebivalcev Slovenije, starih od 18 do 89 let.

Za namen raziskave smo pripravili vlogo za oceno etične ustreznosti. Komisija za etično presojo raziskav s področja prehrane na Biotehniški fakulteti, Univerze v Ljubljani, je ocenila, da je raziskava etično ustrezna (KEP-3-2/2023).

2.2 UREJANJE IN OBDELAVA PODATKOV

Oceno energijske in hranilne ustreznosti zalog 38 živil s seznama URSZR (preračunanih na osebo) v posameznem, v anketo zajetem slovenskem gospodinjstvu, smo opravili s spletnim orodjem Odprta platforma za klinično prehrano (OPKP). Vrednotenje smo pripravili na podlagi podatkov o vsebnosti skupnih maščob, ogljikovih hidratov in beljakovin za posamezno živilo. Podatek o tem, za koliko dni zaloge hrane zadostujejo za preskrbo posameznega gospodinjstva, smo izračunali z linearnim programom.

Statistično obdelavo podatkov smo opravili s programom IBM SPSS 25 (SPSS Inc., Armonk, NY, ZDA). Povezavo med dvema skupinama (npr. poznavanje nacionalnih priporočil, tip naselja, tip bivališča, prisotnost otrok v gospodinjstvu) in količino zalog hrane smo preverjali z Mann-Whitneyevim rang testom. Povezavo med tremi ali več skupinami (npr. regija, mesečni neto dohodek gospodinjstva) in količino zalog hrane smo preverjali z uporabo Kruskal-Wallisovega rang testa. Povezanost med ordinalnimi ali asimetrično porazdeljenimi števili spremenljivkami (npr. ocena verjetnosti nastanka izrednih razmer, občutek ogroženosti, ocena samooskrbe in samozadostnosti, velikost gospodinjstva) in količino zalog hrane smo analizirali s Spearmanovim rang koeficientom. Rezultate smo potrdili kot statistično značilne pri stopnji tveganja 5 %.

3 REZULTATI

3.1 OCENA VERJETNOSTI NASTANKA IZREDNIH RAZMER IN OBČUTEK OGROŽENOSTI

Večina anketirancev ocenjuje, da obstaja nizka verjetnost nastanka izrednih razmer. Z izjavo, da je verjetnost pojava izrednih dogodkov visoka, se strinja le 11,6 % od 815 sodelujočih. Podobno nizka je tudi stopnja zaskrbljenosti glede posledic tovrstnih dogodkov. Le 19,6 % anketirancev izraža strah pred posledicami dogodkov, kot so potresi, poplave ali dolgotrajni izpadi električne energije.

Čeprav anketiranci menijo, da je verjetnost izrednih razmer v Sloveniji majhna, URSZR opozarja na visoko ogroženost slovenskih regij zaradi nesreč z nevarnimi snovmi, nalezljivih bolezni in potresov (URSZR, 2025b). Rezultati raziskave kažejo na to, da prebivalci morda niso dovolj informirani o tveganjih, kar lahko vpliva na njihovo pripravljenost. Zato je ključnega pomena, da pristojne institucije poskrbijo za ozaveščenost javnosti o potencialnih nevarnostih.

3.2 MOTIVI ZA PRIPRAVO ZALOG HRANE

Prebivalci Slovenije hrano večinoma shranjujejo iz praktičnih razlogov. To je predvsem zato, da imajo doma na voljo živila, ki jih pogosto uživajo (68,6 %) ali da se izognejo vsakodnevni nakupom (67,3 %). Več anketirancev ima zaloge hrane tudi zaradi shranjevanja domačih pridelkov in sezonskih kmetijskih izdelkov. Med razloge za pripravo zalog sodijo tudi nakupi večjih količin hrane zaradi ugodnih ponudb, pripravljenost na nenapovedane obiske ter preskrba v primeru bolezni ali neugodnih vremenskih razmer. Le manjši delež anketirancev (11,6 %) pa hrano shranjuje z namenom pripravljenosti na izredne razmere.

Podobno so ugotovili tudi v nemški raziskavi (Gerhold in sod., 2019), kjer je več kot 70 % od skupno 1979 vprašanih kot glavni razlog za pripravo zalog hrane navedlo priročnost, medtem ko jih je le 25 % imelo zaloge za primer naravnih nesreč ali drugih izrednih dogodkov.

3.3 OCENA VLOG POSAMEZNIKA, SOCIALNEGA OKOLJA, TRGOVCEV IN DRŽAVNIH INŠTITUCIJ PRI OSKRBI S HRANO V PRIMERU IZREDNIH RAZMER

58,9 % vprašanih meni, da so za zagotavljanje oskrbe s hrano v izrednih razmerah odgovorni trgovci. 49,3 % anketirancev pričakuje pomoč pri oskrbi s hrano s strani državnih institucij. 45,9 % vprašanih ocenjuje, da se v takšnih primerih lahko zanesejo na pomoč sorodnikov, sosedov in prijateljev. Le 38,5 % pa se jih strinja, da bi v primeru izrednih razmer zmogli samostojno poskrbeti za prehransko oskrbo svojega gospodinjstva.

Visoka stopnja zaupanja v državne institucije ter druge zunanje vire pomoči v kriznih razmerah je bila opažena tudi v kanadski raziskavi (Levac in sod., 2011), kjer je 53 % od 429 anketirancev menilo, da je za pripravljenost na izredne razmere odgovorna država, medtem ko jih je le 27 % menilo, da bi za to morali poskrbeti posamezniki.

Državne institucije so sicer odgovorne za pomoč v kriznih situacijah, vendar pa so njihove zmogljivosti pogosto omejene. Zato je ključnega pomena preventivno ravnanje vsakega posameznika, kar je določeno tudi v Zakonu o varstvu pred naravnimi nesrečami (Zakon ..., 2006). Rezultati raziskave kažejo na velik razkorak med prepričanji prebivalcev in priporočili državnih institucij glede vloge posameznika v izrednih razmerah. Ta razkorak bi bilo

mogoče premagati z večjo ozaveščenostjo, ki bi ljudem pomagala razumeti ter sprejeti potrebne ukrepe za povečanje lastne prehranske varnosti in s tem tudi varnosti celotne skupnosti v kriznih obdobjih.

3.4 POZNAVANJE NACIONALNIH PRIPOROČIL ZA NUJNO ZALOGO HRANE

Večina anketiranih prebivalcev Slovenije ni seznanjena z nacionalnimi priporočili oziroma seznamom URSZR, ki določa 38 osnovnih živil in njihove priporočene količine za preskrbo posameznika v primeru izrednih razmer za obdobje 30 dni. Priporočila pozna le 19,0 % vprašanih, pri oblikovanju lastnih nujnih zalog hrane pa se po njih ravna zgolj 3,3 % sodelujočih.

Raziskava Eurobarometer (EC, 2024) sicer izkazuje višjo stopnjo ozaveščenosti na ravni EU, saj je 58 % prebivalcev v zadnjem letu prejelo informacije o tveganjih v primeru izrednih dogodkov. Kljub temu se enako visok delež anketiranih ne počuti ustrezno pripravljenih na takšne situacije. Poleg tega zgolj 33 % vprašanih meni, da jih pristojni organi dejavno spodbujajo k usposabljanju ali sprejemanju preventivnih ukrepov za povečanje pripravljenosti.

Kampanje za spodbujanje pripravljenosti na krizne situacije lahko pomembno prispevajo k večji odpornosti prebivalstva in zagotavljanju prehranske varnosti v primeru naravnih nesreč ali drugih izrednih dogodkov. Uspešni primeri iz tujine, denimo finska kampanja, ki je prebivalce pozivala k oblikovanju osnovnih zalog življenjskih potrebščin za 72 ur, potrjujejo učinkovitost tovrstnih pristopov. Zaradi kampanje se je ozaveščenost o nacionalnih priporočilih na Finskem med novembrom 2021 in aprilom 2022 povečala z 18 % na 44 % (SPEK, 2022).

Tudi Evropska komisija je marca 2025 predstavila strategijo za izboljšanje pripravljenosti na krizne razmere, v kateri med drugim poziva, da imajo prebivalci zagotovljene zaloge osnovnih potrebščin, vključno s hrano in vodo, za vsaj 72 ur (EC, 2025).

3.5 SKLADNOST ZALOG HRANE Z NACIONALNIMI PRIPOROČILI

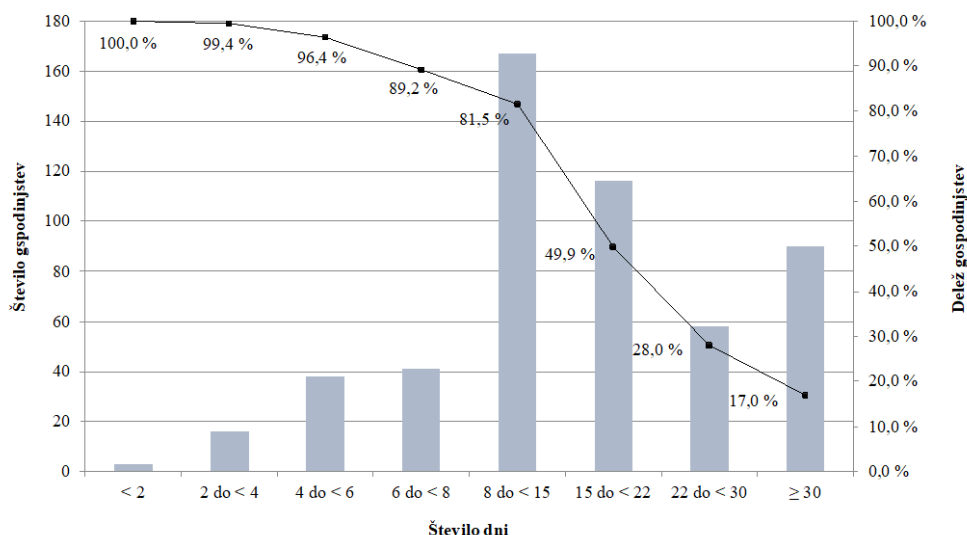
V raziskavi smo pri anketirancih, ki so poznali količine svojih zalog hrane ($n = 529$), ovrednotili količine vseh 38 živil s seznama nacionalnih priporočil za nujno zalogo (preračunane na člana gospodinjstva) ter jih primerjali s priporočenimi vrednostmi. Količino posameznega živila v zalogi gospodinjstva smo ocenili kot zadostno, če je dosegala vsaj 75,0 % priporočene vrednosti. Ugotovili smo, da so v slovenskih gospodinjstvih v zadostnih količinah najpogosteje prisotna živila, kot so sladkor (v 94,0 % gospodinjstev), sol (v 75,8 % gospodinjstev), jedilno olje (v 72,6 % gospodinjstev), marmelada (v 56,3 % gospodinjstev) in rdeča pesa v kisu (v 54,4 % gospodinjstev). Najmanj pogosto imajo anketiranci v zadostnih količinah na zalogi prepečenec (v 1,9 % gospodinjstev), vodo (v 2,3 % gospodinjstev), mesne omake v pločevinki (v 4,5 % gospodinjstev), rezine (npr. žitne, sadne, beljakovinske) (v 7,8 % gospodinjstev) in suh kvas (v 10,0 % gospodinjstev).

Za celovitejši vpogled v prehransko pripravljenost prebivalcev Slovenije na izredne razmere smo zalogo 38 živil s seznama nacionalnih priporočil za nujno zalogo v posameznem gospodinjstvu ocenili tudi na podlagi njene energijske vrednosti in vsebnosti makrohranil. Oceno smo pripravili z linearnim programom, ki je upošteval naslednja prehranska priporočila v izrednih razmerah (WHO, 2000):

- priporočen vnos energije je 2360 kcal (9874 kJ) na dan na osebo,
- vnos beljakovin predstavlja vsaj 10 % dnevnega energijskega vnosa,
- vnos maščob predstavlja vsaj 17 % dnevnega energijskega vnosa in
- vnos ogljikovih hidratov predstavlja največji delež dnevnega energijskega vnosa (to je vsaj 50 %).

Rezultati linearnega programa so pokazali, da bi v prehrani večine prebivalcev Slovenije najhitreje prišlo do pomanjkanja beljakovin. To je veljalo v primeru 409 gospodinjstev (77,3 %). Najkasneje pa bi v njihovi prehrani prišlo do pomanjkanja maščob. To je veljalo v primeru 389 gospodinjstev (73,5 %).

Rezultati prikazani na sliki 1 sicer kažejo na relativno dobro pripravljenost prebivalcev Slovenije na krizne situacije z zalogami hrane. Glede na priporočila za vnos energije in hranil v izrednih razmerah bi imelo 89,2 % gospodinjstev dovolj zalog hrane za vsaj 6 do 7 dni. Za obdobje od vsaj 8 do 14 dni bi bilo samozadostnih 81,5 % gospodinjstev, medtem ko bi v 49,9 % gospodinjstev zaloge hrane zadostovale za vsaj 14 do 21 dni. 28,0 % gospodinjstev bi imelo zadostne zaloge hrane za obdobje od vsaj 22 do 29 dni. 17,0 % pa bi jih bilo samozadostnih 30 dni ali več. V povprečju bi zaloge hrane v slovenskih gospodinjstvih, ocenjene glede na energijsko vrednost in vsebnost makrohranil, zadoščale za približno 21 dni.



Slika 1: Zaloge hrane v slovenskih gospodinjstvih

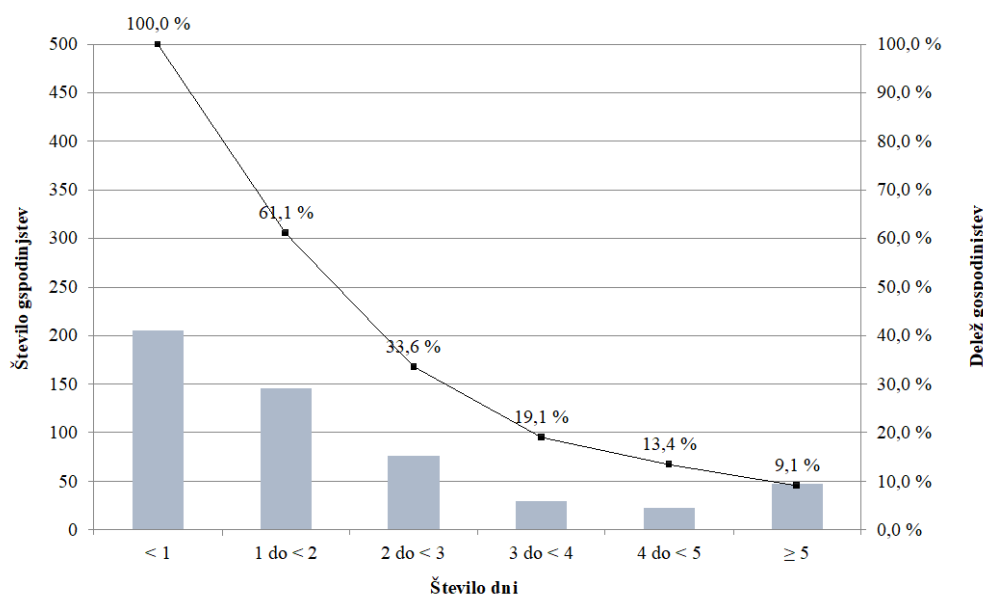
V primerjavi z rezultati tujih raziskav (Levac in sod., 2011; Menski in sod., 2016; Miceli in sod., 2008; Rhein, 2019) smo med prebivalci Slovenije izmerili večje zaloge hrane in s tem boljšo pripravljenost na izredne razmere. To bi morda lahko pojasnili z dejstvom, da Slovenija spada med manj urbane evropske države, kjer so prebivalci tesneje povezani s podeželjem in ohranjajo tradicijo priprave ozimnice. To pa se v povezavi s prehransko varnostjo kaže kot njena prednost.

3.5 SKLADNOST ZALOG TEKOČINE Z NACIONALNIMI PRIPOROČILI

Priporočila za prehrano v izrednih razmerah določajo, da je dnevna potreba po vodi najmanj 7,5 L na osebo. Od tega je 2,5 L namenjenih za zadostitev fizioloških potreb, 2 L za osnovno higieno in 3 L za pripravo hrane (Sphere Association, 2018).

Pri oceni ustreznosti zalog tekočine pri tistih anketirancih, ki so poznali količine svojih zalog hrane ($n = 529$), smo se osredotočili le na fiziološke potrebe, v analizo pa smo vključili vse pijače, ki so navedene v nacionalnih priporočilih oziroma na seznamu URSZR za nujno zalogo hrane (voda, mleko, jabolčni in pomarančni sok).

Kot prikazuje slika 2, so zaloge tekočine v slovenskih gospodinjstvih zelo omejene. V 38,9 % gospodinjstev nimajo na zalogi tekočine niti za 1 dan. V 61,1 % gospodinjstev imajo zaloge tekočine za več kot 1 dan in v 33,7 % gospodinjstev za več kot 2 dni. Le 19,1 % slovenskih gospodinjstev pa ima dovolj zalog tekočin, da bi svoje družinske člane z njimi oskrbela za 3 dni ali več.



Slika 2: Zaloge tekočine v slovenskih gospodinjstvih

Če se osredotočimo zgolj na zaloge embalirane vode, ugotovimo, da 89,0 % gospodinjstev nima dovolj vode za pokritje lastnih fizioloških potreb niti za 1 dan. Ob upoštevanju dodatnih količin vode, potrebnih za osnovno higieno in pripravo hrane (skupaj 7,5 L na osebo na dan), pa delež gospodinjstev z nezadostnimi zalogami vode za vsaj 1 dan naraste na 97,7 %.

3.6 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA KOLIČINO ZALOG HRANE

Ugotovili smo, da imajo prebivalci, ki menijo, da lahko v primeru izrednih razmer sami poskrbijo za lastno preskrbo s hrano, v primerjavi z ostalimi nekoliko večje zaloge hrane ($p < 0,001$). Prav tako smo v primeru višje stopnje prehranske samooskrbe (npr. pridelava vrtnin, poljedelstvo, reja živali) ugotovili pozitivno korelacijo z večjimi zalogami hrane ($p < 0,001$). Povezavo med večjim zaupanjem v lastne sposobnosti obvladovanja izrednih razmer in boljšo pripravljenostjo na tovrstne dogodke potrjujejo tudi tuje študije (Levac in sod., 2011).

Zaloge hrane pri anketirancih, ki so bili seznanjeni z nacionalnimi priporočili za nujno zalogo hrane, bi v povprečju zadoščale za 4 dni dlje v primerjavi z zalogami hrane pri tistih, ki priporočil niso poznali ($p = 0,001$). Prav tako so boljšo pripravljenost na izredne razmere pri posameznikih, ki so bili seznanjeni z ukrepi za pripravo na krizne dogodke, v svoji raziskavi ugotovili raziskovalci Gerhold in sod., (2019).

Podobno kot Rhein (2019) smo potrdili, da ima prostor za shranjevanje hrane pomembno vlogo na pripravljenost na izredne razmere. Prebivalci Slovenije, ki so živeli v hišah, so imeli namreč statistično značilno večje zaloge hrane ($p < 0,001$), kot tisti, ki so živeli v večstanovanjskih zgradbah.

Rezultati raziskave so pokazali statistično značilne razlike v količinah zalog hrane med 12 slovenskimi regijami ($p = 0,003$). Gospodinjstva v regijah, ki so imela v povprečju najmanjše zaloge hrane, so bila v pomurski, podravski, osrednjeslovenski in gorenjski regiji. Največje zaloge pa so imela gospodinjstva v primorsko-notranjski, posavski, koroški in goriški regiji. Osrednjeslovensko in gorenjsko regijo uvrščamo med regije, kjer je podeželje manj prevladujoče, kar bi lahko bil vzrok za večjo odvisnost od nakupovanja v trgovinah, manj prostora za shranjevanje ter manj možnosti za samooskrbo s hrano. URSZR posavsko, osrednjeslovensko in gorenjsko regijo, glede na 11 v naprej pripravljenih ocen ogroženosti (potresi, poplave, nesreče zrakoplova...), uvršča med najbolj ogrožene slovenske regije (URSZR, 2025b). Zato bi bilo smiselno ozaveščanje o nevarnostih in promocijo nacionalnih priporočil za nujno zalogo hrane ciljno še dodatno usmeriti na tovrstna območja.

Ugotovili smo negativno korelacijo med velikostjo gospodinjstva in količinami zalog hrane ($p < 0,001$). To bi lahko pojasnili z večjimi prehranskimi potrebami večjih gospodinjstev ter prostorskimi omejitvami, ki otežujejo vzdrževanje večjih zalog. Prav tako smo zaznali, da imajo gospodinjstva brez otrok v povprečju večje zaloge hrane kot gospodinjstva z otroki, mlajšimi od 18 let. Nasprotno pa so Levac s sod., (2011) v svoji raziskavi ugotovili, da starši zaradi občutka odgovornosti do otrok pogosteje izvajajo preventivne ukrepe za pripravo na izredne razmere.

V primeru ocene verjetnosti nastanka izrednih razmer, občutka ogroženosti, tipa naselja (mestno ali podeželsko) in mesečnega neto dohodka gospodinjstva statistično značilnih razlik v povezavi s količinami zalog hrane nismo zaznali.

4 OMEJITVE RAZISKAVE

Pri interpretaciji rezultatov je treba upoštevati določene omejitve raziskave. Podatek o količini zalog hrane je bil pridobljen na podlagi samoporočanja anketirancev, v tem delu ankete smo prav tako z namenom enostavnejšega izpolnjevanja uporabili polzaprt vprašanja, kar bi lahko vplivalo na točnost zbranih podatkov. Ocena količin zalog je temeljila izključno na 38 živilih s seznama nacionalnih priporočil za nujno zalogo hrane, zato morebitne zaloge drugih živil v slovenskih gospodinjstvih v analizo niso bile zajete. Energijska vrednost in vsebnost makrohranil v nujnih zalogah hrane je bila ocenjena na podlagi referenčnih živil, s čimer smo pridobili le grobo oceno realnega stanja. Vrednotenje prav tako ni upoštevalo individualnih prehranskih potreb posameznikov, niti priporočil za vnos prehranske vlaknine, maščobnih kislin, vitaminov in mineralov.

5 ZAKLJUČEK

Rezultati raziskave kažejo, da večina prebivalcev Slovenije ne posveča pozornosti pripravam na izredne razmere in da je njihova ozaveščenost o možnih tveganjih nizka. V kriznih situacijah bi se večina prebivalcev zanašala na trgovce in državne institucije za zagotavljanje preskrbe s hrano. Kar 81 % anketirancev ne pozna nacionalnih priporočil glede nujnih zalog hrane, kar verjetno prispeva k temu, da ima le 19,1 % slovenskih gospodinjstev v domačih shrambah zaloge tekočine (vode, soka, mleka) za vsaj 3 dni.

Raziskava poudarja potrebo po večjem poudarku na širjenju ozaveščenosti prebivalcev o pripravljenosti na izredne razmere v Sloveniji. Glede na raziskavo Eurobarometer (EC, 2024) kar 70 % državljanov EU zaupa informacijam, ki jih o tveganjih posredujejo državne institucije, kar dodatno potrjuje pomen učinkovitega komuniciranja. V Sloveniji ostaja izziv, kako te informacije uspešno prenesti do prebivalcev prek nacionalnih in lokalnih medijev. Pri tem bi lahko sledili dobrim praksam iz nekaterih evropskih držav, denimo Švedske, kjer so leta 2024 vsem gospodinjstvom razdelili tiskane brošure o pripravljenosti na izredne razmere (MSB, 2024). Prav tako bi bilo smiselno slovenska priporočila uskladiti z najnovejšimi evropskimi smernicami (EC, 2025; Niinistö, 2024), ki temeljijo na konceptu 72-urne samozadostnosti, saj so obstoječa priporočila za 30-dnevno zalogo za marsikatero gospodinjstvo verjetno težje dosegljiva.

Krepitev ozaveščenosti in pripravljenosti je ključna za povečanje odpornosti prebivalstva na naravne nesreče in druge izredne dogodke (SPEK, 2022). Večja pripravljenost zmanjšuje odvisnost od zunanje pomoči in pomembno prispeva k večji samostojnosti ter odpornosti posameznikov, gospodinjstev in družbe kot celote.

6 VIRI

- DeBastiani S. D., Strine T. W., Vagi S. J., Barnett D. J., Kahn E. B. 2015. Preparedness perceptions, sociodemographic characteristics, and level of household preparedness for public health emergencies: behavioral risk factor surveillance system, 2006-2010. *Health Security*, 13, 5: 317–326, <https://doi.org/10.1089/hs.2014.0093>
- EC. 2024. Disaster risk awareness and preparedness of the EU population. Brussels, European Commission, <https://europa.eu/eurobarometer/surveys/detail/3228> (apr. 2025)

- EC. 2025. EU preparedness union strategy. Luxembourg, European Commission, https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/attachment/880970/Factsheet_EU%20Preparedness%20Union%20Strategy.pdf (apr. 2025)
- Gerhold L., Wahl S., Dombrowsky W. R. 2019. Risk perception and emergency food preparedness in Germany. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, 37: 101183, <https://doi.org/10.1016/j.ijdr.2019.101183>
- Levac J., Toal-Sullivan D., O'Sullivan T. L. 2011. Household emergency preparedness: a literature review. *Journal of Community Health*, 37: 725–733, <https://doi.org/10.1007/s10900-011-9488-x>
- Menski U., Wahl S., Tischer H., Gerhold L., Braun J. 2016. Solange der Vorrat reicht... Ergebnisse zweier Befragungen von privaten Haushalten zur Bevorratung mit Lebensmitteln im Falle einer Versorgungskrise. V: Neue Strategien der Ernährungsnotfallvorsorge: Ergebnisse aus dem Forschungsverbund. Menski U. (ur.). Berlin, Freie Universität Berlin: 95-118
- Miceli R., Sotgiu I., Settanni M. 2008. Disaster preparedness and perception of flood risk: a study in an alpine valley in Italy. *Journal of Environmental Psychology*, 28, 2: 164–173, <https://doi.org/10.1016/j.jenvp.2007.10.006>
- MSB. 2024. In case of crisis or war. Karlstad, The Swedish Civil Contingencies Agency (MSB), <https://rib.msb.se/filer/pdf/30874.pdf> (apr. 2025)
- Niinistö S. 2024. Safer together: strengthening Europe's civilian and military preparedness and readiness. Brussels, European Commission, https://commission.europa.eu/document/download/5bb2881f-9e29-42f2-8b77-8739b19d047c_en?filename=2024_Niinisto-report_Book_VF.pdf (apr. 2025)
- OECD. 2020. Food supply chains and COVID-19: impacts and policy lessons. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development, https://www.oecd.org/en/publications/food-supply-chains-and-covid-19-impacts-and-policy-lessons_71b57aea-en/full-report.html (apr. 2025)
- Rhein S. 2019. Kapazitäten der Bevölkerung bei einem Stromausfall: Empirische Untersuchung für das Bezugsgebiet Deutschland. Bonn, Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe, https://www.bbk.bund.de/SharedDocs/Downloads/DE/Mediathek/Publikationen/WF/WF-12-stromausfall.pdf?__blob=publicationFile&v= (apr. 2025)
- SPEK. 2022. Nearly one million Finns have supplemented their home emergency food supply. Helsinki, The Finnish National Rescue Association, <https://www.spek.fi/en/nearly-one-million-finns-have-supplemented-their-home-emergency-food-supply/> (apr. 2025)
- Sphere Association. 2018. The Sphere handbook: humanitarian charter and minimum standards in humanitarian response. 4th ed. Geneva, Sphere Association, <https://spherestandards.org/wp-content/uploads/Sphere-Handbook-2018-EN.pdf> (apr. 2025)
- URSZR. 2025a. Bodite pripravljeni ob nesrečah. Ljubljana, Uprava Republike Slovenije za zaščito in reševanje, <https://www.gov.si teme/bodite-pripravljeni-ob-nesrecah/> (apr. 2025)
- URSZR. 2025b. Ocene ogroženosti zaradi naravnih in drugih nesreč. Ljubljana, Uprava Republike Slovenije za zaščito in reševanje, <https://www.gov.si teme/ocene-ogrozenosti-zaradi-naravnih-in-drugih-nesrec/> (apr. 2025)
- WHO. 2000. The management of nutrition in major emergencies. Geneva, World Health Organization, <https://www.who.int/publications/i/item/9241545208> (apr. 2025)
- WHO. 2020. Countries prepared for health emergencies. Geneva, World Health Organization, <https://www.who.int/about/accountability/results/who-results-report-2020-mtr/outcome/2020/2.1-countries-prepared-for-health-emergencies-results-report-achievements> (apr. 2025)
- WHO. 2024. Emergency situation update: Gaza strip, issue 20. Geneva, World Health Organization, https://www.emro.who.int/images/stories/Sitrep_-_issue_20.pdf?ua=1 (apr. 2025)
- Zakon o varstvu pred naravnimi in drugimi nesrečami. 2006. Uradni list RS, 51/06
- ZRSBR. 2025. Državne blagovne rezerve. Ljubljana, Zavod Republike Slovenije za blagovne rezerve, <https://www.dbr.si/dejavnost/blagajne-rezerve/> (apr. 2025)

VABLJENO PREDAVANJE

MAŠČOBE – TEHNOLOŠKI IN PREHRANSKI VIDIK

Rajko VIDRIH¹, Tomaž POLAK² in Blaž CIGIČ³

Povzetek: Maščobe so eno izmed treh osnovnih makrohranil s katerimi naj bi zagotovili približno tretjino skupnega energijskega vnosa. Poleg esencialnih večkrat nenasičenih omega-3 in omega-6 maščobnih kislin (MK) s prehrano zaužijemo v večjih količinah tudi nasičene in enkrat nenasičene MK. Tako absolutna količina zaužitih maščob kakor tudi razmerja med MK imata določene fiziološke učinke. Prehranski vnos MK je pogojen tudi s tehnološko uporabnostjo maščob. V mnogih primerih imajo maščobe z ustreznimi kemijskimi in fizikalnimi lastnostmi slabšo prehransko vrednost. To velja predvsem za nasičene MK, kjer pa se kažejo razlike v vplivu na zdravje, ki so odvisne od dolžine alkilne verige. S prilagajanjem MK sestave ter z vključevanje določenih nasičenih MK z lihim številom ogljikovih atomov je možno izboljšati prehransko vrednost, ne da bi se poslabšale tehnološke lastnosti. Tudi opustitev tehnologije nepopolnega hidrogeniranja maščob je rezultirala v izboljšani prehranski vrednosti, zaradi manjšega prehranskega vnosa *trans* MK. Nimajo pa vse *trans* MK negativnega vpliva na zdravje, saj nekatere raziskave kažejo, da imajo določene konjugirane *trans* MK protivnetne učinke. V sodobni prehrani je pogostokrat razmerje med zaužitimi omega-3 in omega-6 MK neustrezno, saj slednjih uživamo preveč, kar je predvsem posledica velike vsebnosti linolne kisline v mnogih rastlinskih oljih. Tudi omega-3 MK z 20 in 22 ogljikovimi atomi imajo pomembno mesto v prehrani. Ker je izkoristek njihove sinteze iz alfa-linolenske kisline relativno slab in so prehranski viri omejeni, obstaja velik interes za iskanje alternativnih virov in molekularno bioloških pristopov s katerimi bi zagotovili zadostno vsebnost v živilih.

Ključne besede: maščobe, zdravje, nasičene maščobne kisline, večkrat nenasičene maščobne kisline, *trans* maščobne kisline

FATS - TECHNOLOGICAL AND NUTRITIONAL VIEW

Abstract: Fats are one of the three basic macronutrients, which should make up around a third of the total energy intake. In addition to the essential polyunsaturated omega-3 and omega-6 fatty acids (FA), we also consume large amounts of saturated and monounsaturated FA in our diet. Both the absolute amount of fats ingested and the composition of the fatty acids have certain physiological effects. The dietary intake of FA depends to a large extent on the technological usability of the fats. In many cases, fats with corresponding chemical and physical properties have a lower nutritional value. This is particularly true for saturated fatty acids, where the differences in health effects have been shown to depend on the length of the alkyl chain. By adjusting the FA composition and including certain saturated FAs with an odd number of carbon atoms, the nutritional value can be improved without worsening the technological properties. Abandoning the technology of incomplete hydrogenation of vegetable oils has also led to an improvement in nutritional value, as fewer *trans* fatty acids are consumed in the diet. However, not all *trans* fatty acids have negative effects on health, as some studies show that certain conjugated *trans* fatty acids have anti-inflammatory effects. In the modern diet, many people have an inadequate ratio of omega-3 to omega-6 fatty acids because we consume too much of the latter, mainly due to the high content of linoleic acid in many vegetable oils. Omega-3 fatty acids with 20 and 22 carbon atoms also have an important place in the diet. As the efficiency of their synthesis from alpha-linolenic acid is relatively low and food sources are limited, there is great interest in the search for alternative sources and molecular biological approaches to ensure sufficient levels in food.

Keywords: fats, health, saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, *trans* fatty acids

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

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

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

1 UVOD

Maščobne kisline (MK) so osnovni gradniki maščob (triacilgliceroli), membranskih lipidov in holesterolnih estrov. S prehrano maščobne kisline vnašamo predvsem v obliki maščob (>90%), katerih količina in sestava tako najpomembneje prispeva k skupnemu vnosu kot tudi razmerju posameznih MK. Maščobne kisline se razlikujejo v dolžini alkilne verige, prisotnosti/odsotnosti dvojnih vezi in geometriji dvojnih vezi. Velika večina MK ima linearno verigo brez dodatnih funkcionalnih skupin, razvejanj ali cikličnih struktur, zato tovrstnih, prehransko manj pomembnih MK, v pričajučem prispevku ne bomo obravnavali. V splošnem velja, da imajo MK predvsem sodo število ogljikovih atomov. MK z lihim številom predstavljajo manj kot 0,5% prehranskega vnosa. V kontekstu dolžine alkilne verige imajo v prehrani prevladujoč delež maščobne kisline z 18 ogljikovimi atomi (> 50% prehranskega vnosa), sledijo maščobne kisline s 16 ogljikovimi atomi (> 20%), delež MK s krajšo verigo je v območju 5%, še nekaj manj pa je MK z 20 ali več ogljikovimi atomi. Glede na prisotnost dvojnih vezi zaužijemo največ enkrat nenasičenih MK (> 40%), sledijo nasičene (> 30%) in večkrat nasičene MK (> 20%). Med nenasičenimi maščobnimi kislinami prevladujejo predvsem tiste s *cis* dvojnimi vezmi, saj je delež *trans* MK manjši od 1%, v primeru veganske diete pa praktično zanemarljiv.

Preglednica 1: Strukture nasičenih in nenasičenih maščobnih kislin, ki jih obravnavamo v okviru prispevka

Nasičene maščobne kisline	
Lavrinska kislina	
Miristinska kislina	
Pentadekanojska kislina	
Palmitinska kislina	
Stearinska kislina	
Nenasičene maščobne kisline s <i>cis</i> konfiguracijo	
Oleinska kislina	
Linolna kislina	
α -linolenska kislina	
Eikozapentaenojska kislina	
Dokozaheksaenojska kislina	
Nenasičene maščobne kisline ki vsebujejo tudi <i>trans</i> dvojne vezi	
Vakcenska kislina (t11)	
Konjugirana linolna kislina (t11, t13)	
Konjugirana linolna kislina (c9, t11)	

Dolžina alkilne verige, prisotnost dvojnih vezi in konfiguracija dvojnih vezi imajo velik vpliv na tališče MK in s tem maščob, medtem ko na oksidativno stabilnost vpliva predvsem prisotnost in število dvojnih vezi v MK. Maščobno kislinska sestava vpliva tudi na prehransko vrednost maščob. Dve maščobni kislini, linolna MK (omega-6) in alfa-linolenska MK (omega-3), sta esencialni v humani prehrani, pri čemer je pomemben tako absoluten prehranski vnos kot tudi razmerje med omega-6/omega-3 MK. Na zdravje in prehransko vrednost vpliva tudi delež nasičenih MK, še bolj pa *trans* MK.

Tako količina kot razmerja MK v prehrani se med posamezniki lahko močno razlikujeta, kar je veljalo tako v preteklosti kot velja tudi v sedanjosti, zato ni enostavno podati skupnih značilnosti. Razvoj kmetijstva in živilske tehnologije pa je kljub temu rezultiral v določenih sistemskih spremembah. V splošni populacije se je povečal prispevek maščob k skupni energijski vrednosti zaužite hrane, povečalo se je tudi razmerje med omega-6/omega-3 MK. V določenem obdobju v drugi polovici 20. stoletja se z razvojem tehnologije delne hidrogenacije MK povečal tudi vnos *trans* MK, ki pa je danes, zaradi opustitve te prehransko sporne tehnologije, občutno manjši. Maščobe z ugodno prehransko vrednostjo imajo pogostokrat manj zaželenih tehnoloških lastnosti. Posledično zagotavljanje ustrezne MK sestave ob hkratnem ohranjanju funkcionalnih in senzoričnih lastnosti predstavlja velik izziv.

2 PREGLED POSAMEZNIH SKUPIN MAŠČOBNIH KISLIN IN NJIHOV VPLIV NA ZDRAVJE

2.1 NASIČENE MAŠČOBNE KISLINE

Ljudje lahko sintetiziramo nasičene MK iz ogljikovih hidratov z *de novo* lipogenezo in jih hkrati vnašamo s prehrano. Glavni vir vnosa nasičenih MK so živalske maščobe ter nekatere tropske rastlinske maščobe predvsem palmina in kokosova maščoba. Poleg prispevka k energijski vrednosti hrane so nasičene MK maščobne kisline tudi gradniki membranskih lipidov, kjer njihov večji delež, zaradi steričnih vplivov, prispeva k rigidnosti membran. Večina raziskav o fiziološkem vplivu nasičenih MK se osredotoča predvsem na njihov vpliv na razmerje in velikost lipoproteinskih delcev, kjer visoka relativna vsebnost lipoproteinskih delcev z majhno gostoto (LDL) predstavlja dejavnik tveganja za srčno-žilne bolezni. Študije kažejo, da lahko nasičene MK sprožijo vnetne procese v maščobnem tkivu (Lee in sod., 2001). Mehanizem temelji na vezavi nasičenih MK na receptor TLR4 (toll-like receptor 4), ki je primarno namenjen prepoznavi bakterijskih lipopolisaharidov. Posledično se poveča sproščanje vnetnih citokinov, kot so interlevkin 1 (IL-1), interlevkin 6 (IL-6) in tumorskega nekroznega faktorja alfa (TNF- α), kar prispeva k povečanemu tveganju za bolezni, povezane z visokim vnosom nasičenih MK s prehrano.

2.1.1. Lavrinska kislina

Lavrinska kislina (dodekanojska kislina, C12:0) je nasičena MK. Glavni viri so olje palm *Attalea speciosa*, *Astrocaryum murumuru* in *Attalea cohune*, ki vsebujejo do vsebuje 50 % laurinske kisline podobno kot kokosova maščoba (*Cocos nucifera* L.). V materinem mleku je 6,2 % lavrinske kisline, v govejem in kozjem mleku pa okrog 3 % (Sandhya in sod., 2016).

Kot poročajo (De Roos in sod., 2001), uživanje trdne maščobe, bogate z lavrinsko kislino, daje ugodnejši vzorec serumskih lipoproteinov kot uživanje delno hidrogeniranega sojinega olja.

Praagman in sod. (2016) niso našli značilne povezave med uživanjem lavrinske kisline in pojavom kardiovaskularnih bolezni. Nasprotno pa so avtorji (Hu in sod., 1999; Zong in sod., 2016) ugotovili povečan rizik za pojav kardiovaskularnih bolezni pri uživanju laurinske kisline. Študije kažejo, da lahko dolgotrajne maščobne kisline (C12–18) povečajo tveganje za razvoj kardiovaskularne bolezni, medtem ko imajo srednjeveržne maščobne kisline (C4–C10) koristen ali nevtralen vpliv (Perna in Hewlings 2022). Kot poročajo (Saraswathi in sod., 2020) ima lavrinska kislina v primerjavi s palmitinsko kislino manj škodljivih učinkov na presnovne motnje. Kljub nejasnostim glede vpliva lavrinske kisline na pojav kardiovaskularnih bolezni, pa raziskovalci poročajo tudi o več pozitivnih učinkih lavrinske kisline na zdravje ljudi. Lavrinska kislina je v *in vitro* in *in vivo*

poskusih zavirala razvoj aken (Nakatsuji in sod., 2009; AbouSamra in sod., 2023). Laurinska kislina ima tudi protiglivično aktivnost proti *Candida albicans* pri infekcijah v ustih (Akula in sod., 2021).

2.1.2 Miristinska kislina

Najbogatejši vir miristinske kisline (C14:0) je muškatni orešček (*Myristica fragrans*), ki vsebuje 75 % miristinske kisline. Miristinska kislina se nahaja še palminem olju iz semen (15 %), kokosovem maslu (15 %), maslu (12 %), materinem mleku (8 %).

Miristinska kislina v splošno velja za aterogeno maščobno kislino, kar se povezuje z velikim vplivom na povečanje skupnega holesterola (Berner, 1993). Povišana vsebnost miristinske kisline v živilu rezultira v izrazitem povišanju LDL holesterola (Zock in sod., 1994), kar je nezaželeno, vendar se ta negativen učinek delno kompenzira tudi s povišanjem vsebnosti HDL holesterola (Tholstrup in sod., 1994). Avtorji (Tholstrup in sod., 2003) so pri mladih moških proučevali vpliv prehranskega vnosa miristinske kisline in stearinske kisline na vsebnost HDL holesterola. Do večjega povečanja HDL holesterola je prišlo pri uživanju miristinske kisline.

V študiji “Ventimiglia di Sicilia Heart Study” je vsebnost miristinske kisline v plazmi pokazala izmed nasičenih maščobnih kislin najtesnejšo negativno povezavo (-0,27) z vsebnostjo HDL holesterola (Noto in sod., 2016).

2.1.3. Palmitinska kislina

Palmitinska kislina (C16:0) je prisotna v živalskih maščobah (svinjska mast do 20 %, in goveji loj ter mlečnih izdelki do 26 %), pa tudi v palminem olju (do 47 %), bombaževem olju (do 26 %), kokosovem olju (do 25 %), oljčnem olju (do 20 %), avokadovem olju (do 17 %) (Murru in sod., 2022). Ob zaužitju skupnih maščob v deležu energetskega vnosa maščob od 20 do 30 % je vnos palmitinske kisline okrog 20 g dnevno (Murru in sod., 2022). Palmitinska kislina ima za razliko od oleinske kisline negativen vpliv na funkcionalnost mitohondrijev in prispeva k zmanjšani sintezi ATP (Vázquez-Mosquera in sod., 2021). Uživanje palmitinske kisline je povezano s povečanim tveganjem za srčno-žilne bolezni, raka in za sladkorno bolezen (Pascual in sod., 2021). V substitucijskih analizah je bila zamenjava palmitinske kisline z večkrat nenasičenimi MK povezana z nižjim tveganjem za srčno žilne bolezni; zamenjava lavrinske, miristinske in stearinske kisline z večkrat nenasičenimi MK pa tega tveganja ni zmanjšala (Annevelink in sod., 2023).

2.1.4 Stearinska kislina

Stearinska kislina (C18:0) je dobila ime po grški besedi za trdno maščobo. Najboljši viri so meso (goveji loj 20 %) in mlečni izdelki (maslo 34 %). V maščobah rastlinskega izvora jo vsebuje največ karitejevo maslo (*Vitellaria paradoxa*) (41 %) in kokosovo maslo (34 %), v drugih rastlinskih virih je vsebnost največkrat pod 5 %.

Prve raziskave o vplivu uživanja stearinske kisline na zdravje so poročale o njenem protrombotičnem vplivu. V šestdesetih letih prejšnjega stoletja so za nasičene maščobne kisline, vključno s stearinsko kislino, domnevali, da povzročajo trombozo z aktivacijo faktorja XII (Didisheim in sod., 1963) in vzpodbujajo agregacijo trombocitov. Tudi pri raziskavi v katero so bili vključeni francoski kmeti je bil vnos stearinske kisline s hrano povezan s tendenco trombocitov za agregacijo (Renaud in sod., 1978). Študije na podganah so pokazale, da je bila stearinska kislina zelo trombogena v modelu venske tromboze (Renaud in sod., 1970). Tudi na ljudeh so študije pokazale, da je stearinska kislina protrombotična. Rezultati teh zgodnjih študij se skladajo z ugotovitvami, da nenasičene MK veljajo pomemben dejavnika tveganja za nastanek kardiovaskularnih bolezni (Hooper in sod., 2020).

Kljub temu pa rezultati določenih študij kažejo, da povečan prehranski vnos stearinske kisline ni nujno negativen. Ugotovili so, da prehrana, bogata s stearinsko kislino, znatno zmanjša aktivnost koagulacijskega faktorja VII v primerjavi s prehrano, bogato s palmitinsko kislino (Tholstrup, 2005). Zaščitni učinek stearinske kisline je bil izrazitejši tudi v primerjavi s prehrano z visoko vsebnostjo miristinske in laurinske kisline (Tholstrup, 2005). Uživanje stearinske kisline v količini 19 g/dan je imelo pri moških pozitiven učinek na zmanjšanje rizika zaradi trombogenega in aterogenega učinka (Kelly in sod., 2001), kar se ne sklada z rezultati zgodnjih študij. Velik

vpliv na količino skupnih lipidov v obroku ima tudi položaj stearinske MK v triacilglicerolu (Sanders in Berry 2005). Uživanje obrokov, bogatih s stearinsko kislino zmanjša povišanje skupnih lipidov po obroku v primerjavi s palmitinsko kislino (van Rooijen in sod., 2021), poveča se tudi hitrost beta-oksidacije maščobnih kislin (Senyilmaz-Tiebe in sod., 2018). Stearinska kislina dokazano znižuje raven LDL in HDL holesterola (van Rooijen in sod., 2021), zato lahko prehrana z visoko vsebnostjo stearinske kisline pomeni dobro izbiro za posameznike z velikim tveganjem za trombogena in aterogena stanja (van Rooijen in sod., 2021) v primerjavi z večino ostalih nasičenih MK.

2.2 ENKRAT NENASIČENE MAŠČOBNE KISLINE

V obširni kohortni raziskavi (Liu in sod., 2025) so ugotovili, da povečan prehranski vnos enkrat nenasičenih MK iz rastlinskih virov zmanjša umrljivost zaradi vseh vzrokov, po drugi strani pa to ne velja za enkrat nenasičene maščobne kisline iz živalskih virov, katerih povečan prehranski vnos je povezan z večjo umrljivostjo zaradi vseh vzrokov. Avtorji predvidevajo, da bi te ugotovitve lahko pripisali višji vsebnosti nekaterih zaščitnih snovi v rastlinskih živilih in višjemu deležu nasičenih MK v živalskih virih.

2.2.1 Oleinska kislina

Oleinska kislina (C18:1) je v mnogih maščobah prevladujoča MK. Največ jo najdemo v oljčnem, sončničnem olju z velikim deležem oleinske kisline in lešnikovem olju (do 80 %), mandljevem olju (70 %), ogrščičnem in olju makadamije (do 60 %), arašidovem (50 %), palminem (40 %). Olje makadamije vsebujejo tudi 20 % palmitoleinske kisline (C16:1).

Visok vnos enkrat nenasičenih MK povezujemo z zmanjšanjem pojavnosti kardiovaskularnih bolezni (Schwingshackl in sod., 2014). Ugotovitve metaanaliz kažejo da večji vnos večkrat enkrat nenasičenih MK v primerjavi z nasičenimi MK zmanjša rizik pojava koronarne arterijske bolezni kakor tudi smrtnosti zaradi vseh vzrokov (Maki in sod., 2018; Li in sod., 2020), vendar v manjši meri kot to velja za večkrat nenasičene MK. Zamenjava 1 % dnevnega energetskega vnosa nasičenih MK z enkrat nenasičenimi je značilno znižala skupni holesterol ter LDL holesterol (Petersen in sod., 2024). Zamenjavo nasičenih maščobnih kislin z enkrat nenasičenimi lahko zmerno izboljša krvni tlak, medtem ko večkrat nenasičene MK nimajo učinka (Petersen in sod., 2024). Smernice verodostojnih zdravstvenih in znanstvenih organizacij, priporočajo uživanje netropskih rastlinskih olj, ki vsebujejo enkrat nenasičene in večkrat nenasičene MK, kot del zdravih prehranjevalnih navad (Petersen in sod., 2024).

2.3 VEČKRAT NENASIČENE MAŠČOBNE KISLINE

V dveh velikih kohortnih študijah 120 000 žensk in 50 000 moških srednjih in starejših let poročajo, da zamenjava 5% energijskega vnosa ogljikovih hidratov z maščobami kakor tudi povečan delež večkrat nenasičenih MK prispeva k manjši umrljivost zaradi vseh vzrokov smrti (Liu in sod., 2025). Pomembna ugotovitev študije je tudi, da povečan prehranski vnos omega-6 maščobnih kislin ni problematičen v kontekstu povečevanja komplikacij povezanih s srčno žilnimi boleznimi, diabetesom tipa 2 kakor tudi splošno umrljivostjo.

2.3.1 Linolna in alfa-linolenska kislina

Linolna (18:2) in alfa-linolenska kislina (18:3) sta esencialni maščobni kislini, ki ju v zaužijemo največ med vsemi večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami. Na področju EU predstavlja povprečni dnevni vnos linolne kisline od 4%-6% (priporočilo EFSA 4%) skupnega energijskega vnosa in alfa-linolenske od 0,4%-0,8% (priporočilo EFSA 0,5%) (EFSA Panel on Dietetic Products in Allergies, 2010). Neustrezen prehranski vnos lahko vodi do določenih zdravstvenih problemov. Pogostokrat se izpostavlja, da bi prevelik vnos linolne kisline lahko imel negativne posledice na zdravje, saj je le-ta prekurzor arahidonske kisline iz katere se tvorijo različni vnetni mediatorji (Wang in sod., 2021), ki so pomembni za normalno delovanje imunskega sistema. Nekateri raziskave resda kažejo na povezavo med kroničnimi vnetnimi procesi in povečanim prehranskim vnosom linolne kisline, vendar v splošnem ta povezava ni bila dokazana (Su in sod., 2017). Iz rezultatov meta-analize celo izhaja, da povečan prehranski vnos linolne kisline prispeva k znižanju LDL in HDL holesterola (Wang in sod., 2023). Posamezniki s povečanim

prehranskim vnosom in posledično večjim deležem linolne kisline v plazemskih fosfolipidih so imeli manjšo smrtnost v povezavi s srčno žilnimi obolenji (Wu in sod., 2014).

Povečan prehranski vnos alfa-linolenske ima še bolj ugoden vpliv na zdravje (Gogna in sod., 2023). Ugotovljen je značilen vpliv na zmanjšanje serumskih trigliceridov, LDL in skupnega holesterola (Yue in sod., 2021) kakor tudi na pojavnost kardiovaskularnih bolezni, diabetesa in kognitivnih motenj (Sala-Vila in sod., 2022). Za en gram povečan dnevni prehranski vnos alfa-linolenske kisline rezultira v 5% zmanjšanju smrtnosti zaradi vseh vzrokov (Naghshi in sod., 2021).

2.3.2 Eikozapentaenojska in dokozaheksaenojska kislina

Pomembno fiziološko vlogo imajo tudi dolgoveržne omega-3 MK; eikozapentaenojska (EPA – C20:5) in dokozaheksaenojska (DHA – C22:6). EPA in DHA lahko sinteiziramo iz določenih prekurzorjev kot je npr. alfa-linolenska kislina, vendar je izkoristek te sinteze relativno slab (EPA $\approx$ 7 % in DHA $\approx$ 1 %) (Goyens in sod., 2005). Alfa-linolenska kislina se metabolizira preko več vmesnih stopenj do DHA, kjer je limitirajoči encim delta-6 desaturaza, ki ima večjo afiniteto do omega-6 maščobnih kislin (linolne kisline), kar lahko vpliva na manjši izkoristek sinteze v primeru velikega razmerja med linolno in alfa-linolensko kislino v hrani.

Izkoristek endogene sinteze je precej boljši, če je prekurzor za sintezo stearidonska kislina (C18:4) (Seidel in sod., 2024), saj se v tem primeru preskoči to kritično fazo (delta-6 desaturaza). Olja iz nekaterih semen vsebujejo veliko stearidonske kisline kot je npr. njivsko ptičje seme (*Buglossoides arvensis*), katerega uživanje je rezultiralo v povešanem deležu stearidonske in eikozapentaenojske MK v krvni plazmi (Seidel in sod., 2024). Uporabo olja iz njivskega ptičjega semena v humani prehrani je odobrila tudi EFSA kot novo živilo.

2.3.2.1 Vpliv na zdravje

Kardiovaskularne bolezni so med glavnimi vzroki smrtnosti. Z Uživanjem omega-3 MK se zmanjša rizik za kardiovaskularne bolezni (Tutor in sod., 2024). V okviru dvajset letne študije (852 moških, srednjih let) je bilo ugotovljeno več kot 50 % zmanjšanje kardiovaskularnih bolezni pri udeležencih, ki so uživali vsaj 30 g rib na teden v primerjavi z udeleženci, ki niso uživali rib (Dolecek 1992). V japonski študiji (Yokoyama in sod., 2007) so ugotavljali vpliv vsakodnevnega dodatka 2 g EPA in ugotovili za 19 % zmanjšanje kardiovaskularnih bolezni. V študiji, kjer je bilo vključenih 25000 udeležencev, ki so dnevno uživali 840 mg EPA + DHA niso ugotovili značilnega zmanjšanja kardiovaskularnih bolezni (Manson in sod., 2019). Za preprečevanje kardiovaskularnih bolezni se priporoča večje vnose EPA/DHA kot so bili predstavljeni v mnogih študijah, šele dnevni vnos med 1 in 2 g naj bi imel statistično značilne pozitivne učinke (Bernasconi in sod., 2021), kar pa v zahodnem načinu prehranjevanja z uživanjem rib zelo težko dosežemo.

V japonski študiji (Koba in sod., 2019) so primerjali MK sestavo v krvni plazmi moških pacientov s kardiovaskularnimi boleznimi in kontrolno skupino ljudi brez simptomov kardiovaskularnih bolezni. Pacienti s kardiovaskularnimi boleznimi so imeli v plazmi manj *trans* MK, značilnih za prežvekovalce, ter manj omega-6 in omega-3 kislin (vključno z EPA in DHA) v primerjavi s kontrolno skupino. Po drugi strani pa so plazemski lipidi pacientov s kardiovaskularnimi boleznimi vsebovali več *trans* izomerov linolne kisline, ki nastanejo pri katalitskem hidrogeniranju v industrijskem obsegu.

Zelo dolge omega-3 maščobne imajo ugoden vpliv pri pojavu depresije, anksioznosti in shizofrenije. Dnevni vnos EPA med 1 g in 2 g značilno izboljša simptomne depresije (Kelaiditis in sod., 2023). Pri uporabi kombinacije EPA + DHA se priporoča več kot 60 % delež EPA, saj EPA kaže boljše učinke kot DHA (Kelaiditis in sod., 2023). Uživanje rib lajša simptome pri shizofreniji (Peet in sod., 1996), med uživanjem dolgoveržnih omega-3 MK in pojavom shizofrenije je vzročna povezava (Mellor in sod., 1996).

Prve epidemiološke raziskave so kazale na negativno povezavo med uživanjem rib in koncentracijo glukoze v krvi (Feskens in sod., 1991), česar pa novejša raziskave v glavnem niso potrdile. Kljub obetavnim študijam na

živalih, klinične študije ne kažejo, da ima povečan prehranski vnos zelo dolgih omega-3 MK zančilen vpliv na serumsko glukozo (Itsiopoulos in sod., 2018).

Kot najboljši pokazatelj za oskrbo organizma z zelo dolgimi omega-3 MK je takoimenovani omega-3 indeks. Omega 3 indeks je delež (%) EPA + DHA glede na skupne maščobne kisline prisotne v eritrocitih. Optimalne, priporočene vrednosti omega-3 indeksa so 8 % ali več (Harris, 2010), vendar ne višje od 12 %. Vsako povišanje omega-3 indeksa za 1 %, če je ta manjši od 8 %, glede na analize študij zmanjša pojavnost kardiovaskularnih bolezni za 15 % (Harris in sod., 2017). Za izboljšanje omega 3 indeksa na 8 % ali več, se priporoča vsaj 3 mesečno uživanje 1,0 – 1,5 g EPA + DHA na dan (Dempsey in sod., 2023).

2.4 MAŠČOBNE KISLINE Z LIHIM ŠTEVILOM OGLJIKOVIH ATOMOV

2.4.1 Pentadekanojska kislina

Pentadekanojska kislina (C15:0) je nasičena maščobna kislina z lihim številom ogljikovih atomov. Primarni vir C15:0 je prebavni trakt prežvekovalcev, kjer jo metabolizira mikrobiota v vampu med fermentacijo vlaknin. Osnovni substrat za njeno sintezo je propionat, ki nastane kot produkt mikrobne fermentacije (Emmanuel, 1978). Glavni prehranski viri pentadekanojske kisline so mleko in mlečni izdelki, nekatere vrste rib ter rjave morske alge. Vsebnost C15:0 v mleku znaša približno 1 % od skupnih MK, pri čemer nanjo vplivajo dejavniki, kot sta način prehrane in paše živali (Lindmark Månsson, 2008).

Preglednica 2: Vsebnost pentadekanojske (C15:0) in heptadekanojske (C17:0) kisline v izbranih živilih živalskega in morskga izvora (g/100 g MK) (lastne meritve)

Živilo	C 15:0	C 17:0
Kravje mleko	0,90-1,00	~0,40
Maslo	1,10-1,30	0,40-0,50
Sir	0,90-1,20	0,30-0,45
Jogurt	~0,80	~0,35
Govedina	0,60-0,90	0,40-0,60
Losos	0,20-0,30	0,10-0,20
Skuša	~0,25	~0,15

Nedavne raziskave so pokazale, da ima pentadekanojska kislina številne potencialno ugodne učinke na zdravje. V predkliničnih in kliničnih študijah so ugotovili, da povečan prehranski vnos pentadekanojske kisline vpliva na zmanjšanje jetrne maščobne bolezni, povezane s presnovno disfunkcijo (angl. metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASLD). Ciesielski in sod. (2024) so poročali o zmanjšanju histoloških znakov steatohepatitisa pri modelih z dodajanjem C15:0. Poleg tega so Yoo in sod. (2017) ugotovili negativno korelacijo med koncentracijo C15:0 v serumu in pojavnostjo steatohepatitisa (vnetje jeter povezano z nabiranjem maščobe v hepatocitih). V študiji Wei s sod., (2023) je bilo pokazano, da C15:0 zmanjša izražanje proinflammatoryh citokinov v jetrih, vključno s TNF- α , IL-1 β in IL-6, kar kaže na protivnetni učinek. Poleg tega naj bi ta maščobna kislina spodbujala privzem glukoze v celice in izboljšala občutljivost na inzulin (Fu in sod., 2021). V študiji Venn-Watson in sod. (2020) so ugotovili, da uživanje C15:0 znižuje koncentracije skupnega holesterola in trigliceridov, kar bi lahko prispevalo k zmanjšanju kardiometaboličnega tveganja.

V mleku in mlečnih izdelkih se poleg pentadekanojske kisline nahaja tudi heptadekanojska kislina (C17:0), vendar v manjših količinah. Po podatkih Lindmark Månsson (2008) znaša njen povprečen delež vseh MK približno 0,4 %. Čeprav je prisotna v nižjih koncentracijah, kaže tudi C17:0 na možne koristne biološke učinke, vendar so raziskave na tem področju še v zgodnji fazi.

2.5 TRANS MAŠČOBNE KISLINE

Trans MK se tvorijo predvsem na dva načina: z industrijsko hidrogenacijo rastlinskih olj, pri čemer se uporablja vodik v prisotnosti niklja kot katalizatorja, ter z bihidrogenacijo v prebavilih prežvekovalcev, zlasti v vampu. Mleko, mlečni izdelki in meso prežvekovalcev posledično vsebujejo *trans* izomere oleinske kisline (C18:1) ter

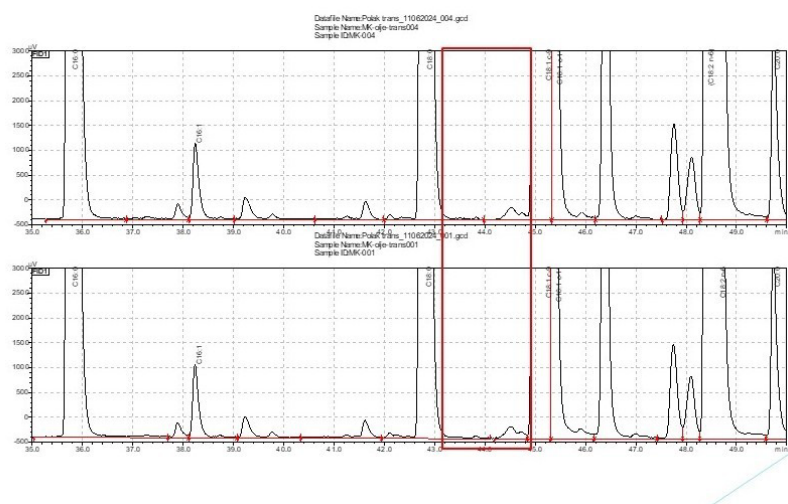
različne izomere konjugirane linolne kisline (CLA, C18:2), ki vključujejo različne kombinacije *cis/trans* konfiguracij na različnih ogljikovih pozicijah. V krvni plazmi krav pasme Holstein so Looor s sodelavci (2005) identificirali različne pozicijske *trans* izomere C18:1, z dvojno vezjo med ogljikovimi atomi C4 in C16. Najpogostejša izomera je bila *trans*-11 C18:1, znana kot vakuenska kislina. Med izomeri konjugirane linolne kisline so zaznali prisotnost izomer z dvojno vezjo na pozicijah 9,11; 11,13 in 10,12, pri čemer so bile konfiguracije *trans/cis* in *cis/trans*, prevladujoča pa je bila izomera *trans*-11, *trans*-13. Poleg tega so v isti študiji dokazali tudi prisotnost nekonjugiranih *cis/trans* izomer linolne kisline, med katerimi je bila najpogostejša *cis*-9, *trans*-13.

Preglednica 3: Primerjava vsebnosti *trans* maščobnih kislin v različnih živilih (lastne meritve)

Vir	<i>trans</i> MK (%)	Glavne izomere
Govedina	2–6	C18:1 <i>t</i> -11; CLA <i>c</i> -9, <i>t</i> -11
Mleko in mlečni izdelki	2–5	C18:1 <i>t</i> -11; CLA <i>c</i> -9, <i>t</i> -11
Svinjina	<0,5	C18:1 <i>t</i> -9 in <i>t</i> -10
Postrvi	0,2-0,3	C18:1 <i>t</i> -9; <i>t</i> -11
Rastlinska olja	<0,5	18:1 <i>t</i> -9
Hidrogenirana olja	10–50 (pred omejitvijo)	C18:1 <i>t</i> -9; <i>t</i> -10; <i>t</i> -11

2.5.1 *Trans* maščobne kisline v industrijsko procesiranih maščobah

V vseslovenski raziskavi o vsebnosti *trans* MK v maščobah za pekovske izdelke in v margarinah smo ugotovili, da je bila C18:1, *trans*-9 najpogostejša izomera, v posameznih primerih pa je prevladovala C18:1, *trans*-10. V izdelkih smo določili izomere C18:1 od *trans*-6 do *trans*-14 (Abramovič in sod., 2018). V vzorcih maščob za pekarstvo (Abramovič in sod., 2018), je bila povprečna vsebnost skupnih *trans* MK 1,72 % v rangi od 0,08 % do 8,49 %. Od analiziranih 33 vzorcev, jih je 9 vsebovalo več kot 2 % *trans* MK. V raziskavi o vsebnosti *trans* MK pred uvedbo pravilnika o omejitvi *trans* MK na 2 % glede na skupne *trans* MK, so pekovski izdelki vsebovali od 2,2 do 31 % skupnih *trans* MK (Mencin in sod., 2021). Prevladujoči *trans* MK sta bili *trans*-9 in *trans*-10 C18:1, z deležem 2,4 % glede na skupne MK (Mencin in sod., 2021). Manjša količina *trans* MK lahko nastane tudi pri dolgotrajni termični obdelavi rastlinskih olj. Zlasti pri visokih temperaturah, kot so cvrtje, peka ali dolgotrajno segrevanje, lahko pride do izomerizacije nenasičenih maščobnih kislin iz naravne *cis* oblike v *trans* obliko. Ta pretvorba je neželena, zato je priporočljivo omejiti večkratno uporabo olj pri visokih temperaturah in uporabiti stabilnejša olja z višjo vsebnostjo enkrat nenasičenih maščobnih kislin, kot je npr. olje z visokim deležem oleinske kisline (Szabó in sod., 2022). Naši rezultati kažejo, da pride med 48 urnim segrevanjem pri 180 °C do delne izomerizacije in posledično tvorbe *trans* izomer. Vsebnost le teh se poveča za več kot 60 % (slika 1), vendar se % od skupnih poveča iz 0,02 % na 0,03 % (rafinirano sončnično olje, C18:1 *trans*-9).



Slika 1: Primerjava kromatogramov (GC-FID) svežega rafiniranega sončničnega olja in olja gretega 48 ur pri 180 °C. Del kromatograma označen z rdečo predstavlja *trans* izomere C18:1 (lastne meritve).

Trans MK veljajo za prehransko najbolj problematične MK, saj za razliko od nasičenih MK, katerih povečan prehranski vnos rezultira povišanem LDL in HDL holesterolu, *trans* MK povišajo LDL holesterol in hkrati znižajo HDL holesterol (Oteng in Kersten, 2020). V primerjavi z oleinsko kislino je uživanje *trans* izomerov oleinske kisline (10 % dnevnih energijskih potreb v času 3 tednov), nastalih s hidrogenacijo, znižalo HDL holesterol za 12 %, povečalo skupni holesterol za 5,8 % ter LDL holesterol za 13,9 % (Mensink in Katan, 1990).

2.5.2 *Trans* maščobne kisline iz naravnih virov

V splošnem velja, da povečan prehranski vnos *trans* MK negativno vpliva na razmerje med HDL in LDL holesterolom. Kljub temu pa imajo lahko nekatere *trans* MK ugoden vpliv na zdravje. To velja predvsem za vakcensko (*trans*-11) in konjugirano linolno kislino (*cis*-9, *trans*-11) (rumenska kislina) (Cristina in sod., 2025), ki sta prevladujoči *trans* MK v mlečnih izdelkih in maščobah prežvekovalcev na splošno. Tako vakcenska kot rumenska kislina se tvorita v vampu z mikrobo hidrogenacijo linolne in alfa-linolenske kisline. Ugotovljeno je bilo, da imata obe maščobni kislini zaščitne učinke proti metabolnemu sindromu, predvsem v povezavi z zmanjšanjem inzulinske rezistence, vnetnih procesov in zamaščenosti jeter (Jacome-Sosa in sod., 2016). V sesalskih celicah se lahko vakcenska kislina pretvarja v rumensko kislino (Field in sod., 2009) in tako obe maščobni kislini prispevata k zmanjšani biosintezi pro-inflamatornih citokinov (Loscher in sod., 2005). Nekatere starejše študije so nakazovale, da ima lahko vakcenska kislina tudi negativen vpliv na zdravje, kar pa je najverjetneje posledica manj ustreznih kontrolnih eksperimentov, saj naj bi k tovrstnim ugotovitvam prispevale predvsem skupne nasičene maščobne kisline, ki prevladujejo v mleku in mlečnih izdelkih (Bilal in sod., 2024). Epidemiološke študije povezujejo uživanje z vakcensko kislino bogate hrane z zaščitnim učinkom proti aterosklerozi v primerjavi z elaidinsko (C18:1 *trans*-9) kislino (Bassett in sod., 2010).

Tudi v rastlinah najdemo MK, ki imajo *trans* dvojne vezi. To so izomeri konjugirane linolenske kisline (KLnK), ki predstavljajo skupino položajnih in geometrijskih izomerov esencialne omega-3 - α -linolenske kisline (*cis*-9, *cis*-12, *cis*-15). Izomeri KLnK so lahko *cis* in/ali *trans*. Semena bučke (*Momordica charantia* L.) vsebujejo izomer CLnK (*cis*-9, *trans*-11, *trans*-13) (Yoshime in sod., 2016). Vsebnost te maščobne kisline imenovane alfa elostearinska kislina v olju je okrog 60 %. Semena granatnega jabolka (*Punica granatum* L.) vsebujejo punično kislino C18:3 (*cis*-9, *trans*-11, *cis*-13), njen delež je do 65 % (Bialek in sod., 2017). Izomeri KLnK iz rastlin delujejo antikancerogeno, uravnavajo presnovo maščob, delujejo protivnetno ter izkazujejo antioksidativno delovanje (Yuan in sod., 2014).

3 KLJUČNI IZZIVI

3.1 RAZMERJE MED OMEGA-3 IN OMEGA-6 MAŠČOBNIMI KISLINAMI

Ustrezno razmerje med omega-3 in omega-6 maščobnimi kislinami, zadostna količina dolgoverižnih omega-3 MK in manjši delež nasičenih maščobnih kislin v živilih so ključni izzivi za prihodnost. Preveliko razmerje med omega-6 in omega-3 MK predstavlja enega največjih problemov v sodobni prehrani, ki pa ga je mogoče z različnimi pristopi izboljšati (Patel in sod., 2022). Večja uporaba oljnic in kultivarjev s prehransko ugodnim razmerjem VNKM ali vključevanje gensko spremenjenih rastlin z velikim potencialom za sintezo omega-3 MK, reformulacijo živil, uporaba krme za živali z veliko vsebnostjo omega-3 MK so nekateri od možnih pristopov. Obogatitev krme bogate za piščance z zmletim lanom rezultira v povišani vsebnosti alfa-linolenske kisline in razmerju med omega-3 in omega-6 MK (Preglednica 4) (Penko in sod., 2015). Seveda takšne sprememba vplivajo tudi na fizikalne lastnosti in manjšo oksidativno stabilnost, zato je vse večji poudarek tudi na iskanju ustreznih antioksidantov (Drašler in sod., 2025). S prehrano živali lahko vplivamo na maščobno kislinsko sestavo.

Prehranski vnos dolgoverižnih omega-3 MK (EPA in DHA) skoraj v celoti sloni na akumulaciji teh MK skozi prehransko verigo od mikroalg, zooplanktona do določenih vrst rib (predvsem plave ribe), saj jih rastline ne morejo sintetizirati. Ker gre v večini primerov za izlov divjih rib, to predstavlja ekološki problem. EPA in DHA kot že omenjeno lahko sintetiziramo iz alfa-linolenske kisline, katere vsebnost je relativno visoka v nekaterih rastlinskih oljih, a so izkoristki pretvorbe majhni. Le ti so občutno večji, če živila vsebujejo stearidonsko MK, katere vsebnost pa je v tehnološko pomebnih oljnicah zanemarljiva. Tako s klasičnimi kot z molekularno

biološkimi pristopi je možno povečati vsebnost te MK v nekaterih rastlinah (Prasad in sod., 2021), kar bi lahko posredno vplivalo na večji potencial za sintezo dolgoveržnih večkrat nenasičenih MK. Nove tehnologije omogočajo tudi gensko spreminjanje rastlin, ki lahko direktno tvorijo EPA in DHA (West in sod., 2021). Vse več raziskav poteka tudi v povezavi z izkoriščanjem alg za njihovo sintezo (Salem Jr in Eggersdorfer 2015), vendar so tu stroški pridelave in ekstrakcije trenutno relativno visoki. V vsakem primeru pa bodo tudi v primeru ekonomske ustreznosti metodologije, z nekonvencionalnimi metodami proizvedeni prehranski viri z velikim deležem EPA in DHA podvrženi strogi regulaciji s področja novih živil.

Preglednica 4: Delež MK v piščančjem mesu hranjenem s kontrolno krmo (kontrola) in krmo obogateno z lanom (lan) (Penko in sod., 2015).

Maščobna kislina	Kontrola	Lan
18:2<i>cis</i>-9,12	19	18,3
18:3<i>cis</i>-9,12,15	1,80 ^b	3,98 ^a
večkrat nenasičene MK	22,2 ^b	23,6 ^a
<i>omega</i> -6 MK	20,1 ^a	19,2 ^b
<i>omega</i> -3 MK	2,07 ^b	4,36 ^a
<i>omega</i> -6 MK/ <i>omega</i> -3 MK	10,1 ^a	4,43 ^b

3.2 NASIČENE MAŠČOBNE KISLINE

Morda največji izziv na področju reformulacije živil v povezavi z izboljšano MK sestavo pa predstavlja zmanjšanje vsebnosti nasičenih MK, saj njihovo prekomerno uživanje povečuje tveganje za razvoj srčno-žilnih bolezni. Nasičene MK, kot sta palmitinska in stearinska kislina, so pri sobni temperaturi trdne in tako pomembno prispevajo k teksturi, stabilnosti in senzoričnim lastnostim izdelkov, kot so margarine, pekovski izdelki in slaščice. Nadomeščanje nasičenih MK z enkrat ali večkrat nenasičenimi maščobnimi kisljinami, ki so v rastlinskih oljih (oljčno, repično, sončnično), predstavlja velik tehnološki izziv. Zamenjava NMK s tekočimi olji pogosto vodi v poslabšanje teksture: izdelki postanejo mehkejši, manj mazljivi, pojavi se fazno ločevanje in zmanjšana stabilnost pri skladiščenju. Prav tako se pojavijo senzorične težave – nenasičene maščobe so bolj nagnjene k oksidaciji, kar vodi v razvoj žarkih arom, predvsem pri toplotni obdelavi in daljšem skladiščenju. Pri izdelkih, kjer tekstura ni ključna (npr. preliivi), se NMK lahko enostavno zamenjajo, medtem ko pekarska industrija zahteva celostno reformulacijo.

Pekovski izdelki proizvedeni v Sloveniji imajo visoko vsebnost nasičenih MK. V kruhu so NMK predstavljale 35 %, v skupini pecivo, piškoti, napolitanke 50 %, v prigrizkih 35 % ter v zamrznjenih testih 50 % vseh MK (Mencin in sod., 2021). Tudi maščobe za pekarstvo (shortening) so v povprečju vsebovale več kot polovico NMK, v rangi od 43 % do kar 95 % (Abramovič in sod., 2018). Za zeleno kakovost izdelkov je potrebno zagotoviti ustrezno mehko in teksturo, okusa v ustih in trajnost končnih izdelkov (Ye in sod., 2019). Ključne tehnološke prednosti nasičenih MK so, da prispevajo k ustreznemu agregatnemu stanju (trdno) pri sobni temperaturi ter so hkrati relativno stabilne in odporne na oksidacijo, zato je uporabnih alternativ relativno malo. Ena od možnosti je uporaba transesterifikacije, kjer samo s spreminjanjem položaja MK znotraj molekule triacilglicerola lahko vplivamo na tališče (Sivakanthan in Madhujith, 2020), kar pomeni, da se lahko z ustrezno razporeditvijo MK doseže enako temperaturo tališča pri manjšem deležu nasičenih MK. Tudi z večjo dolžino nasičenih MK se lahko doseže enako temperaturo tališča, pri manjšem skupnem deležu nasičenih MK v maščobi (Bruce, 2020), kar je zanimivo predvsem v kontekstu stearinske kisline, ki je v prehranskem smislu med najmanj problematičnimi nasičenimi MK in ima za 6 °C višje tališče od palmitinske oziroma za 19 °C od miristinske MK. V primerjavi z miristinsko in palmitinsko kislino ima stearinska kislina tudi manjšo biološko dostopnost ≈ 80 % (McKimmie in sod., 2013), kar lahko predstavlja določeno prednost v primeru prevelikega energijskega vnosa. Uporabna je tudi frakcionacija triacilglicerolov iz kompleksnih mešanic v oljih, ki temelji na ločevanju topnosti pri različnih temperaturah in pripravi frakcij z ustreznimi tehnološkimi lastnostmi. Do določene mere lahko na tališče lipidov in večjo oksidativno stabilnost vplivamo tudi z zmanjšanjem deleža linolenske kisline na račun oleinske kisline, kot to velja za sončnično olje z velikim deležem oleinske kisline. Alternativo klasičnim pristopom predstavljajo

tudi oleogeli, kjer se lahko tudi maščobe z velikim nenasičenih MK strukturno stabilizira z različnimi hidrokoloidi (da Silva in sod., 2019), kar prispeva tako k ugodnejši MK sestavi kot tudi energijski vrednosti živila.

4 VIRI

- AbouSamra M. M., Farouk F., Abdelhamed F. M., Emam K. A., Abdeltawab N. F., Salama A. H. 2023. Synergistic approach for acne vulgaris treatment using glycerosomes loaded with lincomycin and lauric acid: Formulation, in silico, in vitro, LC-MS/MS skin deposition assay and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 646, 123487
- Abramovič H., Vidrih R., Zlatič E., Kokalj D., Schreiner M., Žmitek K., Kušar A., Pravst I. 2018. Trans fatty acids in margarines and shortenings in the food supply in Slovenia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 74, 53-61
- Akula S. T., Nagaraja A., Ravikanth M., Kumar N. G. R., Kalyan Y., Divya D. 2021. Antifungal efficacy of lauric acid and caprylic acid-Derivatives of virgin coconut oil against *Candida albicans*. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 5, 2, 229-234
- Annevelink C. E., Sapp P. A., Petersen K. S., Shearer G. C., Kris-Etherton P. M. 2023. Diet-derived and diet-related endogenously produced palmitic acid: Effects on metabolic regulation and cardiovascular disease risk. *Journal of clinical lipidology*, 17, 5, 577-586
- Bassett C. M., Edel A. L., Patenaude A. F., McCullough R. S., Blackwood D. P., Chouinard P. Y., Paquin P., Lamarche B., Pierce G. N. 2010. Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in LDLr^{-/-} mice. *The Journal of nutrition*, 140, 1, 18-24
- Bernasconi A. A., Wiest M. M., Lavie C. J., Milani R. V., Laukkanen J. A. 2021. Effect of omega-3 dosage on cardiovascular outcomes: an updated meta-analysis and meta-regression of interventional trials. *Mayo Clinic Proceedings*, 96, 2, 304-313
- Berner L. A. 1993. Roundtable discussion on milkfat, dairy foods, and coronary heart disease risk. *The Journal of nutrition*, 123, 6, 1173-1183
- Białek A., Stawarska A., Bodecka J., Białek M., Tokarz A. 2017. Pomegranate seed oil influences the fatty acids profile and reduces the activity of desaturases in livers of Sprague-Dawley rats. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 131, 9-16
- Bilal G., Waheed H. M., Baig J. A., Qayyum A. 2024. Possibilities of improving fatty acid composition of bovine milk from human health standpoint: a review. *Agricultural Livestock Farming*, 1, 10-16
- Bruce J. 2020. The technological challenges of reducing the saturated fat content of foods. *Nutrition Bulletin*, 45, 3, 315-320
- Cristina M.-O., Elizabeth B.-R., Jose R.-A. M., Berenice P.-G., Diego Z., Luis C.-S. J. 2025. Mechanisms and Therapeutic Potential of Key Anti-inflammatory Metabiotics: Trans-Vaccenic Acid, Indole-3-Lactic Acid, Thiamine, and Butyric Acid. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-14
- da Silva S. L., Amaral J. T., Ribeiro M., Sebastião E. E., Vargas C., de Lima Franzen F., Schneider G., Lorenzo J. M., Fries L. L. M., Cichoski A. J. 2019. Fat replacement by oleogel rich in oleic acid and its impact on the technological, nutritional, oxidative, and sensory properties of Bologna-type sausages. *Meat science*, 149, 141-148
- De Roos N. M., Schouten E. G., Katan M. B. 2001. Consumption of a solid fat rich in lauric acid results in a more favorable serum lipid profile in healthy men and women than consumption of a solid fat rich in trans-fatty acids. *The Journal of nutrition*, 131, 2, 242-245
- Dempsey M., Rockwell M. S., Wentz L. M. 2023. The influence of dietary and supplemental omega-3 fatty acids on the omega-3 index: A scoping review. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1072653
- Didisheim P., Mibashan R. S., Haemostasis 1963. Activation of Hageman factor (factor XII) by long-chain saturated fatty acids. *Thrombosis*, 9, 02, 346-353
- Dolecek T. A. 1992. Epidemiological evidence of relationships between dietary polyunsaturated fatty acids and mortality in the multiple risk factor intervention trial. *Proceedings of the Society for Experimental Biology Medicine*, 200, 2, 177-182
- Drašler V., Polak T., Štefane B., Abramovič H., Cigić B. 2025. Palmitoylspermine: A potent antioxidant in bulk oil and emulsion. *Food Chemistry*, 143271
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8, 3, 1461

- Feskens E. J., Bowles C. H., Kromhout D. 1991. Inverse association between fish intake and risk of glucose intolerance in normoglycemic elderly men and women. *Diabetes care*, 14, 11, 935-941
- Field C. J., Blewett H. H., Proctor S., Vine D. 2009. Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34, 5, 979-991
- Gogna S., Kaur J., Sharma K., Bhadariya V., Singh J., Kumar V., Rasane P., Vipasha V. 2023. A systematic review on the role of alpha linolenic acid (ALA) in combating non-communicable diseases (NCDs). *Nutrition and Food Science*, 53: 2, 221-233
- Goyens P. L., Spilker M. E., Zock P. L., Katan M. B., Mensink R. P. 2005. Compartmental modeling to quantify α -linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. *Journal of lipid research*, 46, 7, 1474-1483
- Harris W. S. 2010. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Current cardiology reports*, 12, 503-508
- Harris W. S., Del Gobbo L., Tintle N. L. 2017. The Omega-3 Index and relative risk for coronary heart disease mortality: Estimation from 10 cohort studies. *Atherosclerosis*, 262, 51-54
- Hooper L., Martin N., Jimoh O. F., Kirk C., Foster E., Abdelhamid A. S. 2020. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane database of systematic reviews*: 8,
- Hu F. B., Stampfer M. J., Manson J. E., Ascherio A., Colditz G. A., Speizer F. E., Hennekens C. H., Willett W. C. 1999. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 6, 1001-1008
- Itsiopoulos C., Marx W., Mayr H. L., Tatucu-Babet O. A., Dash S., George E. S., Trakman G. L., Kelly J. T., Thomas C. J., Brazionis L. 2018. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in the management of type 2 diabetes mellitus: A narrative review. *Journal of Nutrition and Intermediary Metabolism*, 14, 42-51
- Jacome-Sosa M., Vacca C., Mangat R., Diane A., Nelson R. C., Reaney M. J., Shen J., Curtis J. M., Vine D. F., Field C. J. 2016. Vaccenic acid suppresses intestinal inflammation by increasing anandamide and related N-acylethanolamines in the JCR: LA-cp rat. *Journal of lipid research*, 57, 4, 638-649
- Kelaiditis C. F., Gibson E. L., Dyall S. C. 2023. Effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids on reducing anxiety and/or depression in adults; A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 192, 102572
- Kelly F., Sinclair A., Mann N., Turner A., Abedin L., Li D. 2001. A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males. *European journal of clinical nutrition*, 55, 2, 88-96
- Koba S., Takao T., Shimizu F., Ogawa M., Ishii Y., Yokota Y., Furuyama F., Tsunoda F., Shoji M., Harris W. S. 2019. Comparison of plasma levels of different species of trans fatty acids in Japanese male patients with acute coronary syndrome versus healthy men. *Atherosclerosis*, 284, 173-180
- Lee J. Y., Sohn K. H., Rhee S. H., Hwang D. 2001. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 20, 16683-16689
- Li J., Guasch-Ferré M., Li Y., Hu F. B. 2020. Dietary intake and biomarkers of linoleic acid and mortality: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 112, 1, 150-167
- Liu Y., Gu X., Li Y., Rimm E. B., Willett W. C., Stampfer M. J., Hu F. B., Wang D. D. 2025. Changes in fatty acid intake and subsequent risk of all-cause and cause-specific mortality in males and females: A prospective cohort study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 121, 1, 141-150
- Loscher C. E., Draper E., Leavy O., Kelleher D., Mills K. H., Roche H. M. 2005. Conjugated linoleic acid suppresses NF- κ B activation and IL-12 production in dendritic cells through ERK-mediated IL-10 induction. *The Journal of Immunology*, 175, 8, 4990-4998
- Maki K. C., Eren F., Cassens M. E., Dicklin M. R., Davidson M. H. 2018. ω -6 polyunsaturated fatty acids and cardiometabolic health: current evidence, controversies, and research gaps. *Advances in Nutrition*, 9, 6, 688-700
- Manson J. E., Cook N. R., Lee I.-M., Christen W., Bassuk S. S., Mora S., Gibson H., Albert C. M., Gordon D., Copeland T. 2019. Marine n-3 fatty acids and prevention of cardiovascular disease and cancer. *New England Journal of Medicine*, 380, 1, 23-32
- McKimmie R. L., Easter L., Weinberg R. B. 2013. Acyl chain length, saturation, and hydrophobicity modulate the efficiency of dietary fatty acid absorption in adult humans. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 305, 9, G620-G627

- Mellor J. E., Laugharne J. D., Peet M. 1996. Schizophrenic symptoms and dietary intake of n-3 fatty acids. *European Psychiatry*, 11, S4, 214s-214s
- Mencin M., Abramovič H., Zlatič E., Demšar L., Piskernik S., Schreiner M., Žmitek K., Kušar A., Pravst I., Vidrih R. 2021. Content of trans-fatty acid isomers in bakery products on the Slovenian market. *LWT*, 143, 111095
- Mensink R. P., Katan M. B. 1990. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *New England Journal of Medicine*, 323, 7, 439-445
- Murru E., Manca C., Carta G., Banni S. 2022. Impact of dietary palmitic acid on lipid metabolism. *Frontiers in Nutrition*, 9, 861664
- Naghshi S., Aune D., Beyene J., Mobarak S., Asadi M., Sadeghi O. 2021. Dietary intake and biomarkers of alpha linolenic acid and risk of all cause, cardiovascular, and cancer mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMJ*, 375,
- Nakatsuji T., Kao M. C., Fang J.-Y., Zouboulis C. C., Zhang L., Gallo R. L., Huang C.-M. 2009. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *Journal of investigative dermatology*, 129, 10, 2480-2488
- Noto D., Fayer F., Cefalù A. B., Altieri I., Palesano O., Spina R., Valenti V., Pitrone M., Pizzolanti G., Barbagallo C. M. 2016. Myristic acid is associated to low plasma HDL cholesterol levels in a Mediterranean population and increases HDL catabolism by enhancing HDL particles trapping to cell surface proteoglycans in a liver hepatoma cell model. *Atherosclerosis*, 246, 50-56
- Oteng A.-B., Kersten S. 2020. Mechanisms of action of trans fatty acids. *Advances in Nutrition*, 11, 3, 697-708
- Pascual G., Domínguez D., Elosúa-Bayes M., Beckedorff F., Laudanna C., Bigas C., Douillet D., Greco C., Symeonidi A., Hernández I. 2021. Dietary palmitic acid promotes a prometastatic memory via Schwann cells. *Nature*, 599, 7885, 485-490
- Patel A., Desai S. S., Mane V. K., Enman J., Rova U., Christakopoulos P., Matsakas L. 2022. Futuristic food fortification with a balanced ratio of dietary ω -3/ ω -6 omega fatty acids for the prevention of lifestyle diseases. *Trends Food Science and Technology*, 120, 3, 140-153
- Peet M., Laugharne J., Mellor J., Ramchand C. 1996. Essential fatty acid deficiency in erythrocyte membranes from chronic schizophrenic patients, and the clinical effects of dietary supplementation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55, 1-2, 71-75
- Penko A., Polak T., Polak M. L., Požrl T., Kakovič D., Žlender B., Demšar L. 2015. Oxidative stability of n-3-enriched chicken patties under different package-atmosphere conditions. *Food Chemistry*, 168, 372-382
- Perna M., Hewlings S. 2022. Saturated fatty acid chain length and risk of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutrients*, 15, 1, 30
- Petersen K. S., Maki K. C., Calder P. C., Belury M. A., Messina M., Kirkpatrick C. F., Harris W. S. 2024. Perspective on the health effects of unsaturated fatty acids and commonly consumed plant oils high in unsaturated fat. *British Journal of Nutrition*, 1-12
- Praagman J., Beulens J. W., Alsema M., Zock P. L., Wanders A. J., Sluijs I., Van Der Schouw Y. T. 2016. The association between dietary saturated fatty acids and ischemic heart disease depends on the type and source of fatty acid in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Netherlands cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 103, 2, 356-365
- Praagman J., de Jonge E. A., Kieffe-de Jong J. C., Beulens J. W., Sluijs I., Schoufour J. D., Hofman A., van der Schouw Y. T., Franco O. H. 2016. Dietary saturated fatty acids and coronary heart disease risk in a Dutch middle-aged and elderly population. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 36, 9, 2011-2018
- Prasad P., Anjali P., Sreedhar R. 2021. Plant-based stearidonic acid as sustainable source of omega-3 fatty acid with functional outcomes on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 10, 1725-1737
- Renaud S., Kuba K., Goulet C., Lemire Y., Allard C. 1970. Relationship between fatty-acid composition of platelets and platelet aggregation in rat and man: relation to thrombosis. *Circulation research*, 26, 5, 553-564
- Renaud S., Dumont E., Godsey F., Suplisson A., Thevenon C., haemostasis 1978. Platelet functions in relation to dietary fats in farmers from two regions of France. *Thrombosis*, 40, 05, 518-531
- Sala-Vila A., Fleming J., Kris-Etherton P., Ros E. 2022. Impact of α -linolenic acid, the vegetable ω -3 fatty acid, on cardiovascular disease and cognition. *Advances in Nutrition*, 13, 5, 1584-1602
- Salem Jr N., Eggersdorfer M. 2015. Is the world supply of omega-3 fatty acids adequate for optimal human nutrition? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 18, 2, 147-154
- Sanders T. A., Berry S. E. 2005. Influence of stearic acid on postprandial lipemia and hemostatic function. *Lipids*, 40, 12, 1221-1227

- Sandhya S., Talukdar J., Bhaishya D. 2016. Chemical and biological properties of lauric acid: A review. *International Journal of Advanced Research*, 4, 1123-1128
- Saraswathi V., Kumar N., Gopal T., Bhatt S., Ai W., Ma C., Talmon G. A., Desouza C. 2020. Lauric acid versus palmitic acid: effects on adipose tissue inflammation, insulin resistance, and non-alcoholic fatty liver disease in obesity. *Biology*, 9, 11, 346
- Schwingshackl L., Hoffmann G., disease 2014. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids in health*, 13, 1-15
- Seidel U., Eberhardt K., Wiebel M., Luersen K., Ipharraguerre I. R., Haegele F. A., Winterhalter P., Bosy-Westphal A., Schebb N. H., Rimbach G. 2024. Stearidonic acid improves eicosapentaenoic acid status: studies in humans and cultured hepatocytes. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1359958
- Senyilmaz-Tiebe D., Pfaff D. H., Virtue S., Schwarz K. V., Fleming T., Altamura S., Muckenthaler M. U., Okun J. G., Vidal-Puig A., Nawroth P. 2018. Dietary stearic acid regulates mitochondria in vivo in humans. *Nature communications*, 9, 1, 3129
- Sivakanthan S., Madhujith T. 2020. Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: A review. *LWT*, 132, 109880
- Su H., Liu R., Chang M., Huang J., Wang X. 2017. Dietary linoleic acid intake and blood inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food and function*, 8, 9, 3091-3103
- Tholstrup T., Marckmann P., Jespersen J., Vessby B., Jart A., Sandström B. 1994. Effect on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis of a fat high in myristic acid and a fat high in palmitic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60: 6, 919-925
- Tholstrup T., Vessby B., Sandstrom B. 2003. Difference in effect of myristic and stearic acid on plasma HDL cholesterol within 24 h in young men. *European journal of clinical nutrition*, 57, 6, 735-742
- Tholstrup T. 2005. Influence of stearic acid on hemostatic risk factors in humans. *Lipids*, 40: 12, 1229-1235
- Tutor A., O'Keefe E. L., Lavie C. J., Elagizi A., Milani R., O'Keefe J. 2024. Omega-3 fatty acids in primary and secondary prevention of cardiovascular diseases. *Progress in cardiovascular diseases*,
- van Rooijen M. A., Plat J., Blom W. A., Zock P. L., Mensink R. P. 2021. Dietary stearic acid and palmitic acid do not differently affect ABCA1-mediated cholesterol efflux capacity in healthy men and postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Clinical nutrition*, 40, 3, 804-811
- van Rooijen M. A., Plat J., Zock P. L., Blom W. A., Mensink R. P. 2021. Effects of two consecutive mixed meals high in palmitic acid or stearic acid on 8-h postprandial lipemia and glycemia in healthy-weight and overweight men and postmenopausal women: A randomized controlled trial. *European journal of nutrition*, 60, 3659-3667
- Vázquez-Mosquera M. E., Fernández-Moreno M., Cortés-Pereira E., Relaño S., Dalmao-Fernández A., Ramos-Louro P., Durán Sotuela A., Rego-Pérez I., Blanco F. J. 2021. Oleate prevents palmitate-induced mitochondrial dysfunction in chondrocytes. *Frontiers in physiology*, 12, 670753
- Wang B., Wu L., Chen J., Dong L., Chen C., Wen Z., Hu J., Fleming I., Wang D. W. 2021. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 6, 1, 94
- Wang Q., Zhang H., Jin Q., Wang X. 2023. Effects of dietary linoleic acid on blood lipid profiles: a systematic review and meta-analysis of 40 randomized controlled trials. *Foods*, 12, 11, 2129
- West A., Miles E., Lillycrop K., Napier J., Calder P., Burdge G. 2021. Genetically modified plants are an alternative to oily fish for providing n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet: a summary of the findings of a Biotechnology and Biological Sciences Research Council funded project. *Nutrition Bulletin*, 46, 1, 60-68
- Wu J. H., Lemaitre R. N., King I. B., Song X., Psaty B. M., Siscovick D. S., Mozaffarian D. 2014. Circulating omega-6 polyunsaturated fatty acids and total and cause-specific mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation research*, 130, 15, 1245-1253
- Ye X., Li P., Lo Y. M., Fu H., Cao Y. 2019. Development of novel shortenings structured by ethylcellulose oleogels. *Journal of food science*, 84, 6, 1456-1464
- Yokoyama M., Origasa H., Matsuzaki M., Matsuzawa Y., Saito Y., Ishikawa Y., Oikawa S., Sasaki J., Hishida H., Itakura H. 2007. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *The Lancet*, 369, 9567, 1090-1098
- Yoshime L. T., de Melo I. L. P., Sattler J. A. G., de Carvalho E. B. T., Mancini-Filho J. 2016. Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) seed oil as a naturally rich source of bioactive compounds for nutraceutical purposes. *Nutrire*, 41, 1-7

- Yuan G.-F., Chen X.-E., Li D. 2014. Conjugated linolenic acids and their bioactivities: a review. *Food Function*, 5, 7, 1360-1368
- Yue H., Qiu B., Jia M., Liu W., Guo X.-f., Li N., Xu Z.-x., Du F.-l., Xu T., Li D. 2021. Effects of α -linolenic acid intake on blood lipid profiles : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 17, 2894-2910
- Zock P. L., De Vries J., Katan M. B. 1994. Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arteriosclerosis thrombosis: a journal of vascular biology*, 14, 4, 567-575
- Zong G., Li Y., Wanders A. J., Alssema M., Zock P. L., Willett W. C., Hu F. B., Sun Q. 2016. Intake of individual saturated fatty acids and risk of coronary heart disease in US men and women: two prospective longitudinal cohort studies. *BMJ*, 355

OD ŽIVIL DO KRMIL – MOŽNOSTI UPORABE NEKDANJIH ŽIVIL KOT KRMIL ZA ŽIVALI

Alenka LEVART¹, Ilja Gasan OSOJNIK ČRNIVEC², Tanja PAJK ŽONTAR³, Breda JAKOVAC STRAJN⁴, Gabrijela TAVČAR KALCHER⁵, Tatjana PIRMAN⁶, Andrej LAVRENČIČ⁷, Vida REZAR⁸, Luka JUVANČIČ⁹, Matej FATUR¹⁰ in Janez SALOBIR¹¹

Povzetek: Pridelana hrana, ki je ne zaužijemo, nosi odtis vseh predhodnih postopkov, od pridelave, predelave in dobave do prodaje in priprave, ter tako po eni strani zmanjšuje količino razpoložljive hrane, po drugi pa povzroča številne neugodne okoljske, družbene in gospodarske učinke. Uporaba nekdanjih živil, ki smo jih iz prehranske verige odstranili iz razlogov, ki ne vplivajo na varnost njihove uporabe kot alternativnih krmil za prehrano živali, zato pomaga uresničevati pomembne cilje na poti k trajnostnemu krožnemu biogospodarstvu. Med drugim so to zagotavljanje prehranske varnosti, zmanjšanje odvisnosti slovenske živinoreje od uvoženih surovin in njenega pritiska na prehranske vire za ljudi ter zmanjšanje vpliva agroživilske verige na okolje. Da bi živali lahko uspešno krmili s krmili iz nekdanjih živil, je treba poznati omejitve in posebnosti njihove uporabe. Pri uporabi nekdanjih živil kot krmil za živali se pojavlja kopica vprašanj, ki zahtevajo prilagoditve v celotni verigi od mesta nastanka do zbiranja, skladiščenja, obdelave za nadaljnjo uporabo, distribucije, priprave krme, do prilagoditev tehnologije krmjenja živali. Ker gre za neobičajna oziroma "nova" krmila, je z vidika precizne, okoljsko naravnane prehrane živali potrebno določiti njihovo hranilno vrednost, učinke na proizvodnost, zdravje in počutje živali ter vpliv na tehnološko kakovost in hranilno vrednost tako pridobljenih živil živalskega izvora.

Ključne besede: nekdanja živila, krmila, zakonodaja, rejne živali, trajnost

FROM FOOD TO FEED – POSSIBILITIES OF USING FORMER FOOD AS ANIMAL FEED

Abstract: Produced food that is not consumed carries the imprint of all previous processes, from production, processing, and supply to sale and preparation. On one hand, this reduces the amount of available food for humans, and on the other, it causes numerous adverse environmental, social, and economic effects. The use of former foods which have been removed from the food chain for reasons that do not affect their safety for use as alternative animal feedstuffs, thus helps achieve important goals on the path to a sustainable circular bioeconomy. These goals include ensuring food security, reducing the dependence of Slovenian livestock farming on imported raw materials and its pressure on food resources for humans, and reducing the impact of the agri-food chain on the environment. To successfully feed animals with feed made from former food, it is necessary to understand the limitations and specifics of their use. The use of such feed raises numerous questions that require adjustments throughout the entire chain, from the point of origin to collection, storage, processing for further use, distribution, feed preparation, and feeding technology. Since these are unusual or "novel" feeds, it is necessary to determine their nutritional value, effects on productivity, animal health and welfare, and their impact on the technological quality and nutritional value of animal products from the perspective of precise, environmentally-oriented animal nutrition.

Keywords: former food, feedstuffs, legislation, livestock, sustainability

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

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

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

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, Ljubljana, e-mail: breda.jakovacstrajn@vf.uni-lj.si

⁵ znan. sod. dr., Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, Ljubljana, e-mail: gabrijela.tavcarkalcher@vf.uni-lj.si

⁶ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: tatjana.pirman@bf.uni-lj.si

⁷ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: andrej.lavrencic@bf.uni-lj.si

⁸ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: vida.rezar@bf.uni-lj.si

⁹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: luka.juvancic@bf.uni-lj.si

¹⁰ asist., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: matej.fatur@bf.uni-lj.si

¹¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 34, Domžale, e-mail: janez.salobir@bf.uni-lj.si

1 UVOD

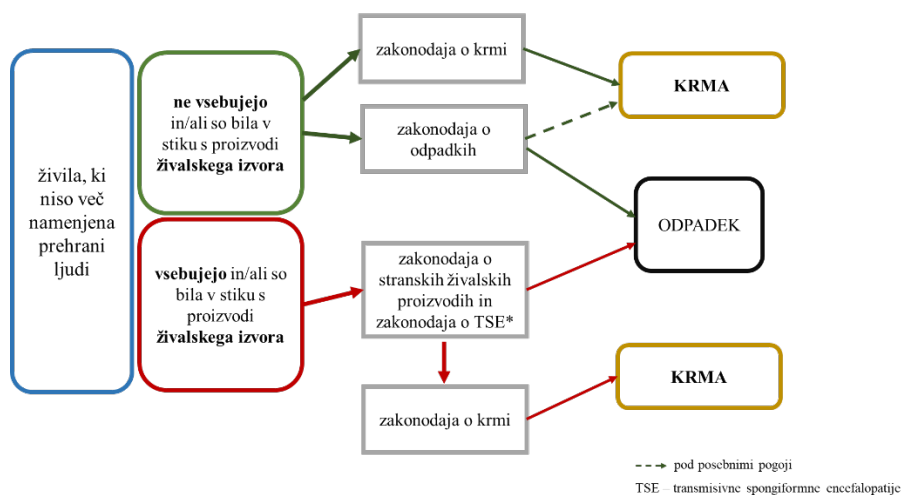
Zmanjševanje izgub hrane in odpadne hrane je pomembna prioriteta tako Združenih narodov kot Evropske unije. Direktiva (EU) 2018/851 (2018) izpostavlja potrebo po učinkoviti izrabi tudi za ljudi neužitnega dela hrane ter užitnega dela hrane, ki ga ljudje iz različnih razlogov ne uživamo, ki nastaja med njeno pridelavo, predelavo, pripravo in zaužitjem. Direktiva uvaja prioritetni način uporabe presežkov in odpadne hrane (ang. Food waste hierarchy) v smeri, ki v tretji točki izpostavlja uporabo presežkov hrane, ki niso več namenjeni prehrani ljudi, za prehrano živali. V Sloveniji smo leta 2021 sprejeli Strategijo za manj izgub hrane (Strategija, 2021) in odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano: »Spoštujmo hrano, spoštujmo planet«. Strategija med strateške cilje poleg preprečevanje nastajanja izgub, presežkov in odpadne hrane, doniranja (banke hrane) in predelave v nove proizvode/živila za ljudi, poudarja tudi preusmerjanje v krmo za živali, preden jo iz prehranske verige odstranimo v skladu s predpisanimi postopki ravnanja z odpadno hrano (pretvorba v energijo v bioplinarnah, kompostiranje). Za zagotovitev prehranske varnosti in trajnostnosti prehrane naraščajoče populacije ljudi, zmanjšanje odvisnosti slovenske živinoreje od uvoženih surovin, zmanjšanje njenega pritiska na prehranske vire za ljudi in vpliva na okolje, je in bo vedno bolj nujno, da v prehrani živali poiščemo in uporabimo lokalne alternativne vire hranljivih snovi za njihovo krmo. Ko izčrpamo prednostne možnosti uporabe živil v prehrani ljudi, jih v določenih primerih že uporabljamo v prehrani živali, saj specifične prehranske potrebe različnih vrst in kategorij rejnih živali ter družnih živali omogočajo učinkovito izkoriščanje hranil iz teh živil in stranskih tokov živilske industrije.

Z zamenjavo konvencionalnih sestavin krme (krmil) z inovativnimi lahko zmanjšamo obseg rabe zemljišč za proizvodnjo krme, krčenje gozdov in evtrofikacijo, porabo pesticidov, energije in vode, kar pomeni varčnejšo uporabo naravnih virov in zmanjšanje okoljskih bremen. Tako zasledujemo cilje evropskega zelenega dogovora, akcijskega načrta za krožno gospodarstvo in še posebej strategije »od vil do vilic«.

2 NEKDANJA ŽIVILA IN NJHOVO RAZVRŠČANJE V KRMILA

Opredelitev hrane (Uredba (ES), 178/2002, 2002) vključuje vso hrano vzdolž celotne prehranske verige in vključuje neužitne dele, če niso ločeni med proizvodnjo. Po Uredbi EU 2017/1017 (2017) hrana, ki ni več namenjena prehrani ljudi oz. nekdanja živila (ang. Former Food Products, FFP) pomenijo živila, razen odpadkov iz gostinskih dejavnosti, ki so bila proizvedena za prehrano v popolni skladnosti z živilsko zakonodajo, vendar niso več namenjena prehrani ljudi iz praktičnih ali logističnih razlogov, težav pri proizvodnji vmesnih ali končnih izdelkov (nepravilna oblika, barva, okus, napake pri embaliranju, označevanju), napak pri pakiranju (npr. poškodovana embalaža, zdrobljeni izdelki, napake pri označevanju) ali drugih napak, ki ne predstavljajo tveganja za zdravje živali. Dodatni razlogi, ki vodijo do nastanka takšnih živil, so med drugim presežki hrane, povezani s prazniki ali športnimi in kulturnimi dogodki, približevanje konca roka uporabnosti živil, presežki nastali zaradi logističnih težav (precenjeno naročanje živil v trgovinah, rok dostave) in presežki zaradi ukinjanja določene vrste proizvodov.

V Smernicah za uporabo živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi, v krmi (2018/C 133/02, 2018) so nekdanja živila razvrščena glede na sestavo v živila, ki niso sestavljena iz ali bila v stiku s proizvodi živalskega izvora in živila, ki vsebujejo ali so bila v stiku s proizvodi živalskega izvora (Slika 1). Nekdanja živila iz prve skupine v okviru obstoječe zakonodaje (Uredba (ES) 178/2002, 2002) lahko neposredno preusmerimo v krmne verige ali pa najprej postanejo odpadki v okviru opredelitve in področja uporabe direktive o odpadkih, vendar pod posebnimi pogoji lahko postanejo krma za živali (Uredba (EU) 1069/2009, 2009; Uredba (EU) 142/2011, 2011).



Slika 1: Diagram poteka od živil, ki niso več namenjena za prehrano ljudi, do krme (povzeto po Smernice (2018/C 133/02) za uporabo živil kot krme, 2018)

Nekateri stranski, oziroma so-proizvodi, ki izhajajo iz postopka proizvodnje živil rastlinskega izvora, kot so na primer oljne pogače, pšenični kalčki, otrobi, pivske tropine in podobno ter ustrezajo merilom za stranske proizvode (možnost neposredne uporabe z uporabo običajnih industrijskih postopkov, zagotovilo, da bo material uporabljen v skladu z zakonodajo o varnosti krme in izpolnjevanje vseh zahtev v povezavi s proizvodom, okoljem in varstvom zdravja), se predelujejo in v praksi tradicionalno uporabljajo kot krmila tudi pri nas.

Preglednica 1: Zakonodajne omejitve uporabe živalskih stranskih proizvodov in živil živalskega izvora, v krmi za živali (prirejeno po FEFAC, 2021)

V krmi dovoljena živila in stranski proizvodi živalskega izvora	Prežvekovalci	Prašiči	Perutnina	Ribe	Družne živali
predelane beljakovine prežvekovalcev	P	P	P	P	D
proizvodi iz krvi prežvekovalcev	P	P	P	P	D
želatina in kolagen iz prežvekovalcev	P	D	D	D	D
predelane beljakovine neprežvekovalcev	P	P	P	P	D
predelane beljakovine perutnine	P	D	P	D	D
predelane beljakovine prašičev	P	P	D	D	D
predelane beljakovine žuželk	P	D	D	D	D
ribja moka	P	D	D	D	D
proizvodi iz krvi neprežvekovalcev	P	D	D	D	D
di in trikalcijski fosfat živalskega izvora	P	D	D	D	D
želatina in kolagen iz prežvekovalcev	D	D	D	D	D
želatina in kolagen iz neprežvekovalcev	D	D	D	D	D
jajca in proizvodi iz jajc	D	D	D	D	D
mleko in mlečni proizvodi	D	D	D	D	D

P – prepovedana uporaba; D – dovoljena uporaba

Nekdanja živila iz druge skupine živil, ki vsebujejo ali so bila v stiku s proizvodi živalskega izvora, najprej na podlagi Uredbe o živalskih stranskih proizvodih (Uredba (ES) št. 1069/2009, 2009) in Uredbe o transmisivnih spongiformnih encefalopatijah (Uredba (ES) 999/2001, 2001) uvrstimo v skupino živalskih stranskih proizvodov (ŽSP). Njihova preusmeritev v krmne verige je dovoljena, vendar se v proizvodnji krme ne smejo uporabljati neposredno. Živalski stranski proizvodi, pridobljeni pri proizvodnji živil, namenjenih za prehrano ljudi, se kategorizirajo kot snovi kategorije 3, ki se predelane lahko uporabljajo kot krma (Uredba (ES) št. 1069/2009, 2009), v krmo jih predelajo za ta namen posebej registrirani predelovalci. V kategorijo 3 se uvrščajo tudi nekdanja živila, ki vsebujejo ali so bila v stiku z živilom živalskega izvora. Posebnost te skupine živil je, da številni proizvodi, ki so varni za ljudi, brez predelave ali po predelavi, niso varni za zdravje živali in morajo zato biti izključeni iz krmne verige. Evropska zakonodaja določa stroga pravila glede na vrsto snovi živalskega izvora, ki jih vsebujejo. Zaradi preprečevanja transmisivnih spongiformnih encefalopatij se z izjemo mleka in mlečnih proizvodov ali

topljene maščobe ne smejo uporabljati beljakovine prežvekovalcev v krmi rejnih živali, razen za kožuharje in hišne živali. Podobno se neposredno kot krma ne smejo uporabljati živila, ki vsebujejo ribe, lahko pa se predelajo v ribjo moko, s katero ne smemo krmiti prežvekovalcev (Preglednica 1).

Na osnovi novih znanstvenih spoznanj se omejitve uporabe ŽSP v prehrani rejnih živali postopoma sproščajo. Od leta 2021 je odpravljena popolna prepoved krmljenja rejnih neprežvekovalcev, ki niso kožuharji, z beljakovinami, pridobljenimi iz živali (Uredba (EU) 2021/1372, 2021). Dovoljeno je krmljenje perutnine in prašičev z beljakovinami, pridobljenimi iz žuželk ter krmljenje perutnine z beljakovinami, pridobljenimi iz prašičev in krmljenje prašičev z beljakovinami, pridobljenimi iz perutnine. Uporaba topljenih maščob, predelanih iz živil, ki niso več namenjena za prehrano ljudi, v krmnih mešanica za rejne živali, je dovoljena.

Izjema so v EU pridelana in v skladu z zakonodajo predelana živila, ki vsebujejo naslednje sestavine živalskega izvora: mleko, proizvodi, pridobljeni iz mleka; jajca in proizvodi iz jajc; med; topljene maščobe in želatina/kolagen, ki ne izvira iz prežvekovalcev, ki se lahko nepredelane uporabijo kot krma za rejne živali. Če sestavine predhodno niso bile termično obdelane (surovo mleko, jedilna jajca), se morajo pred uporabo za krmo predelati v skladu z zakonodajo o živalskih stranskih proizvodih. Vsa krmila, ki jih v EU smemo uporabljati za krmljenje živali, so popisana v katalogu posamičnih krmil (Uredba (EU) št. 2017/1017, 2017). Kot krmila se lahko uporabljajo rastlinski stranski proizvodi pri proizvodnji živil, kot so otrobi, tropine, pogače, droži, pulpe. Dovoljena je uporaba proizvodov pekarske in testeninarske industrije, industrije peciva, kolačev in konditorske industrije, sladoleda, gotovih živil, sladkih aromatiziranih pijač in sadnih sirupov. Pod posebnimi pogoji je dovoljena uporaba nekdanjih živil, ki vsebujejo proizvode živalskega izvora (Preglednica 2).

Preglednica 2: Nekdanja živila, katerih uporaba je v katalogu posamičnih krmil dovoljena v krmi za živali (povzeto po: Uredba (EU) 2017/1017, 2017)

številka	Ime	Opis	Obvezne navedbe
9.14.1	proizvodi živalskega izvora	Nekdanja živila, ki vsebujejo proizvode živalskega izvora, z obdelavo ali brez nje, npr. sveži, zamrznjeni, posušeni.	surove beljakovine surove maščobe vlaga, če > 8 %
13.1.1	proizvodi pekarstva in testeninarstva	Proizvodi, pridobljeni i in med izdelavo kruha, piškotov, oblatov ali testenin. Lahko so posušeni	škrob skupni sladkorji surove maščobe, če > 5 %
13.1.2	proizvodi industrije peciva in kolačev	Proizvodi, pridobljeni z in med izdelavo peciva in kolačev. Lahko so posušeni.	škrob skupni sladkorji surove maščobe, če > 5 %
13.1.3	proizvodi pridobivanja žitnih kosmičev	Snovi ali proizvodi, ki so namenjeni za prehrano ljudi oziroma, kadar je to mogoče razumno pričakovati, jih ljudje lahko zaužijejo v njihovi predelani, delno predelani ali nepredelani obliki. Lahko so posušeni	škrob skupni sladkorji surove maščobe, če > 5 %
13.1.4	proizvodi konditorske industrije	Proizvodi, pridobljeni z in med izdelavo sladkarij, vključno s čokolado. Lahko so posušeni.	škrob skupni sladkorji surove maščobe, če > 5 %
13.1.5	proizvodi izdelave sladoleda	Proizvodi, pridobljeni pri izdelavi sladoleda. Lahko so posušeni.	škrob skupni sladkorji surove maščobe
13.1.6	proizvodi in stranski proizvodi predelave sadja in zelenjave	Proizvodi, pridobljeni pri predelavi svežega sadja in zelenjave (vključno z olupki, celimi deli sadja/zelenjave in njihovimi mešanica. Lahko so posušeni ali zamrznjeni.	škrob skupni sladkorji surove maščobe, če > 5 % pepel, netopen v HCl, če > 3,5 %

Potencial bivših živil kot trajnostnega vira krme ostaja neizkoriščen predvsem zaradi regulativnih omejitev, ki ne ločujejo dovolj jasno med varnostnimi tveganji (npr. navzočnost alergenov, mikrobiološka kontaminacija) in

administrativnimi ovirami (npr. sledljivost, označevanje). Trenutna EU zakonodaja zato obravnava bivša živila precej restriktivno. V zakonodaji bi bilo smiselno bolj jasno opredeliti kategorije bivših živil in omogočiti, da tista, ki ne predstavljajo zdravstvenih tveganj in ustrezajo higienskim zahtevam, lažje vstopijo v prehransko verigo živali. Tako bi prispevali k zmanjšanju odpadne hrane in k večji krožnosti v agroživilski verigi. Trenutna zakonodaja o uporabi bivših živil v krmi je preveč enotna in ne upošteva tehnološkega napredka v obdelavi in sledenju teh materialov. Zaradi napredka v predelavi, nadzoru in digitalnem označevanju živil obstaja možnost, da se bivša živila obravnavajo bolj ciljano. EU bi lahko razvila pozitivno listo izdelkov (npr. kruh, testenine, rastlinski prigrizki brez sestavin živalskega izvora), ki so varni in primerni za uporabo v krmi ter jih izpostavila poenostavljenim regulativnim postopkom. S tem bi spodbudili njihovo uporabo brez ogrožanja varnosti. Ključno pri tem je vključitev digitalnih rešitev za sledljivost in nadzor kakovosti.

3 PREHRANSKA IN KRMILNA VREDNOST NEKDANJIH ŽIVIL

Kriteriji, na osnovi katerih se odločamo, ali so nekdanja živila primerna za krmo za živali, so njihova hranilna in krmilna vrednost, varnost uporabe iz vidika kontaminacije z mikroorganizmi in ostanki embalaže. Upoštevamo tudi obseg predelave v krmila. Krmljenje živali s krmo, ki vsebuje nekdanja živila, lahko vpliva na tehnološko kakovost in prehransko vrednost živil živalskega izvora.

Za predelavo v krmila so najbolj primerna tista nekdanja živila, ki jih lahko kot krmo uporabljamo brez večjih postopkov predelave, kot so na primer s hranili in energijo bogata živila (kruh, proizvodi iz žit). Uporabimo lahko tudi živila, ki vsebujejo večji delež vode (sadje, zelenjava, sadni sokovi ipd.), vendar imajo nižjo hranilno vrednost, zato jih je potrebno pred uporabo vsaj delno posušiti/koncentrirati, kar zahteva dodatno energijo in poveča stroške. Podobno kot ljudje, živali slabše tolerirajo določene vrste živil in nekaterih živil ne zauživajo rade, kar velja predvsem za kislá, slaná in močno začinjena živila, ki jih lahko v krmi uporabljamo v omejenih količinah.

Dober primer je uporaba ostankov npr. industrije pekovskih in testeninskih izdelkov in slaščičarske industrije (sladki in slani prigrizki). Z mešanjem teh izdelkov je mogoče izdelati relativno homogena krmila, ki so po energiji zelo dobra alternativa žitom, a je ta zamenjava kompleksen problem, ki ga je potrebno raziskati (Pinotti, 2021). Npr. pri prašičih je prebavljivost in dinamika prebave hranil ostankov pekovske industrije zaradi termične obdelave drugačna, prebavljivost je večja, kar lahko poveča proizvodnost, pospeši absorpcijo in zviša glikemijski indeks (Luciano, 2020), kar je lahko problem, saj pri pitancih in brejih svinjah skrajša čas občutka sitosti in poveča agresivno obnašanje (Salobir, 2016). Ostanki pekovskih proizvodov lahko vplivajo tudi na zdravje prebavil in mikrobioto, saj dobra prebavljivost hranil in malo vlaknin vodi do zmanjšanja obsega in biotske raznovrstnosti mikrobiote v debelem črevesu, obenem pa lahko veliko za bakterije hitro fermentabilnega substrata v tankem črevesu vodi do bakterijskega preraščanja; oboje je povezano z vnetji, prepustnimi prebavili, infekcijami (Tretola, 2019; Pinotti, 2021). Upoštevati je treba tudi, da je zaradi termične obdelave izkoristljivost nekaterih hranil lahko slabša (Rojas, 2013).

Vključevanje živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi, je mogoče tudi v prehrano vseh kategorij prežvekovalcev, vendar z določenimi omejitvami, odvisnimi od sestave uporabljenih živil. Če vsebujejo veliko sladkorjev, škroba in maščob, so običajno zelo okusna in prebavljiva. Tovrstna so primerna za prehrano sesnih telet. Pri krmljenju ostalih kategorij pa lahko pri uporabi prevelikega deleža nekdanjih živil v krmi živali zbolijo za acidozo, saj sladkorji in škrob v predželodcih hitro in obsežno fermentirajo (Pinotti, 2021, Kaltenecker, 2021). Problem predstavljajo živila z veliko vsebnostjo soli in/ali maščob, saj lahko vodijo do presnovnih bolezni (acidoza), zastrupitve s soljo; prevelike količine maščob zavrejo delovanje vampovih mikroorganizmov, kar poslabša prirejo (Pinotti, 2021). Ilustrativna je tudi raziskava Pinottija (2020), o potencialu solate v prehrani mlečnih krav. Solate vsebujejo veliko vode (6 % suhe snovi) in veliko beljakovin. Uporaba solate je enostavna, a ima tudi pasti: beljakovine so dobro topne, zato je količina v vampu razpoložljivega dušika visoka in je zato obrok potrebno prilagoditi z ustrežno vsebnostjo fermentabilne energije, saj bi sicer lahko prišlo do lamineitisa in napenjanja. Problem solatnic so antinutritivni glukozinolati ter visoka vsebnost nitratov, ki se lahko v vampu reducirajo do nitritov, kar lahko vodi do zastrupitev (Pinotti, 2020).

4 DOBRE PRAKSE UPORABE NEKDANJIH ŽIVIL

Preusmerjanje nekdanjih živil v krmo za živali vključuje različne tehnološke procese. Odvisno od sestave (vsebnosti proizvodov živalskega porekla) nekdanjih živil, jih v krmo lahko predelajo in dajo na trg deležniki v prehranski verigi ali specializirani predelovalni obrati, ki so del krmne verige. Za zagotavljanje varnosti in kakovosti hrane, so obrati v prehranski verigi registrirani, odobreni in kontrolirani v skladu z veljavno evropsko zakonodajo (Uredba (ES) št. 852/2004, 2004), enako velja za nosilce dejavnosti poslovanja s krmo (Uredba (ES) 767/2009, 2009; Uredba (ES) 183/2005, 2005). To pomeni, da se morajo nosilci dejavnosti, ki se ukvarjajo s proizvodnjo, distribucijo in prodajo živil v primeru, da želijo nekdanja živila neposredno oddati v krmno verigo, registrirati tudi za poslovanje v krmo, saj postanejo odgovorni za vse zahteve glede varnosti krme.

Vsa nekdanja živila, ki jih glede na veljavno zakonodajo lahko predelamo v krmo/krmila, poleg omejitev glede vsebnosti živalskih proizvodov, ne smejo vsebovati v prehrani živali nedovoljenih snovi. V postopku predelave nekdanjih živil za prehrano živali jih je potrebno identificirati oz. pripraviti seznam nekdanjih živil, ki jih je mogoče predelati v krmo in nato zbirati v ločenih, označenih vsebnikih ob upoštevanju specifičnih pogojev shranjevanja (temperatura, vlaga...), da preprečimo njihovo kvarjenje. Za vse postopke je potrebno opraviti analizo tveganja in kritičnih kontrolnih točk (HACCP). Zagotavljati je potrebno sledljivost vsakega lota nekdanjih živil, namenjenih za predelavo v krmo, ki v primeru neskladij omogoča odpoklic (WRAP, 2016).

Bolj pogosta praksa kot dvojno registrirana podjetja, ki predvsem soproizvode pri predelavi živil in nekdanja živila rastlinskega izvora neposredno dajejo na trg krme v Evropski uniji in Veliki Britaniji je, da obrati, ki delujejo v prehranski verigi, soproizvode in predvsem nekdanja živila oddajo v predelavo specializiranim predelovalcem, ki jih transportirajo, predelajo v krmo/krmila in dajo na trg krme. V Evropi se predelovalci nekdanjih živil združujejo v evropsko združenje predelovalcev nekdanjih živil EFFPA (European Former Food Processors Association), ki vključuje približno 100 velikih, srednjih in manjših predelovalcev. Le ti na letni ravni predelajo približno 3,5 milijonov ton krme za različne vrste živali iz nekdanjih živil od skupno 5 milijonov ton nekdanjih živil, ki se po oceni EFFPA letno v krmo/krmila predela v Evropi. Ti predelovalci nekdanjih živil v krmo običajno predelujejo izdelke pekarske, slaščičarske in testeninarske industrije. V prehrani živali je mogoče uporabiti tudi sadje in zelenjavo, vendar njihova je predelava v krmila, ki bi jih lahko enostavno uporabljali v proizvodnji krmnih mešanic in v intenzivnih sistemih reje, pogosto tako delovno intenzivna in energijsko potratna, da ekonomsko ni upravičena. Taka predelava zaradi velikih stroškov zbiranja, transporta in predelave, predvsem energije potrebne za sušenje, zelo draga; sploh glede na hranilno vrednost in vsebnost energije takih krmil. Ob tem predstavlja zelo velik problem tudi kvarjenje med zbiranjem, transportom in skladiščenjem pred predelavo (Lavrenčič in sod., 2024).

Za razliko od evropskega modela uporabe nekdanjih živil kot krmil za živali, kjer le ta zbiramo v verigi preskrbe s hrano predvsem na nivoju predelave in prodaje in je prepovedana uporaba ostankov hrane iz gostinskih in javnih obratov za pripravo hrane ter pri potrošnikih, so tovrstne prakse v nekaterih azijskih državah in v zveznih državah ZDA dovoljene. Najdaljšo tradicijo predelave viškov in odpadne hrane v krmo/krmila za živali ima na področju Azije Japonska. Prvi zakon o recikliranju viškov in odpadne hrane, v katerem so kot prioriteto izpostavili recikliranje/konverzijo užitnega dela viškov in odpadne hrane kot krmo za živali, so na Japonskem sprejeli že leta 2000 (Okoyama in Watanabe, 2024). Krmo za živali, predelano iz rastlinskih soproizvodov industrije hrane in pijač (ostanki pri proizvodnji tofuja, alkoholnih pijač ...), neprodane hrane (kruh, pripravljene obroki ...), ostankov pri pripravi hrane ter ostankov na nivoju primarne proizvodnje (kmetije) imenujejo »ecofeed«. Po japonski zakonodaji odpadna hrana, ki nastane v živilsko predelovalni industriji, spada med industrijske odpadke (med katero spadajo tudi stranski in soproizvodi, ki jih v EU zakonodaja obravnava ločeno), odpadna hrana, ki nastaja v sektorjih prodaje, distribucije in gostinstva, pa med komunalne odpadke. Na začetku (od leta 2001) so recikliranje viškov in odpadne hrane v krmo vzpodbujali v večjih podjetjih, ki delujejo na področjih predelave, prodaje in gostinstva. Kasneje (leta 2007) so vzpodbude razširili na manjša in srednja podjetja, v letu 2010 pa tudi na sektor hotelirstva in gostinstva. V letu 2021 so na Japonskem v krmo pretvorili 62 % odpadne hrane iz živilsko predelovalnih obratov, manj uspešni so pri predelavi viškov in odpadne hrane v veleprodaji in prodaji ter v gostinstvu, kjer je v povprečju v krmo predelajo 40 % (Nakaishi in Takayabu, 2022).

V raziskavi, ki je potekala v okviru projekta »Načini in možnosti uporabe živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi kot alternativnih krmil za rejne in družne živali« smo opravili razgovore z različnimi deležniki v živilsko predelovalnem in trgovinskem sektorju v Sloveniji. Ugotovili smo, da so potencialni viri stranskih tokov in viškov hrane, ki nastajajo pri predelavi hrane v živilsko predelovalnih podjetjih in v trgovinah, številni in razpršeni. Količine teh tokov se z optimizacijo tehnoloških procesov pri predelavi v podjetjih, izboljšano logistiko in načrtovanjem potrošnje pri trgovcih, zmanjšujejo. Nekatera podjetja v živilsko predelovalnem sektorju še ohranjajo dvojno registracijo in stranske ter soproizvode pri predelavi hrane v krmne verige oddajajo neposredno, nekatera viške prodajajo po nižji ceni, oziroma donirajo neposredno kmetom. Predelovalcev stranskih in soproizvodov živilske industrije in nekdanjih živil, z izjemo obrata za predelavo ŽSP kategorije 3, v Sloveniji nimamo. Deležniki v prehranski verigi zato stranske in soproizvode ter nekdanja živila za predelavo v krmila izvažajo v tujino, oziroma jih odstranjujejo na druge predpisane načine (predelava v bioplin, kompostiranje, sežig). Glede na ocenjene količine predvidevamo, da bi na področju Republike Slovenije lahko delovalo manjše predelovalno podjetje, za katerega so izrazili interes tudi deležniki v živilsko predelovalni industriji in trgovci, ki pa bi za ekonomsko uspešno in konkurenčno predelavo nekdanjih živil v krmo/krmila potrebovalo dodatne vire za predelavo izven območja Slovenije.

5 ZAKLJUČEK

Zavedanje pomena trajnostnega, krožnega biogospodarstva ter konkurenca za hrano sta potrebo po izkoriščanju še ne uporabljenih virov krme za proizvodnjo hrane še povečala. Med te vire sodijo nekdanja živila. Znatno delež nekdanjih živil, ki so bila iz prehranskih verig odstranjena iz razlogov, ki ne vplivajo na njihovo kakovost in varnost, predstavlja velik potencial in priložnost, da jih prerazporedimo v krmne verige in na ta način zmanjšamo pritisk na prehranske vire za ljudi ter zmanjšamo vpliv agroživilske verige na okolje. Za učinkovito rabo nekdanjih živil je potrebno predvsem organizirati kratke verige od mesta nastanka nekdanjih živil, do obratov za predelavo, proizvajalcev krmnih mešanic in rejcev ter razviti tehnologije, ki bodo omogočale izvedbo na učinkovit in ekonomsko zanimiv način.

Sklapljanje prehranskih in krmnih verig zaradi varovanja zdravja ljudi ter varovanja zdravja, dobrobiti in proizvodnosti živali ter kakovosti njihovih proizvodov, predstavlja izziv tako raziskovalcem, proizvajalcem hrane krme ter rejcem živali, kakor tudi zakonodajalcem, saj bo za učinkovito in varno rabo živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi, v krmni verigi potrebno odgovoriti na kopico vprašanj, ki bodo zahtevala prilagoditve tako v prehranskih, kot tudi v krmnih verigah.

Delo je nastalo v okviru CRP Projekta V4-2210: Načini in možnosti uporabe živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi kot alternativnih krmil za rejne in družne živali, ki sta ga sofinancirala Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano in Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije.

6 VIRI

Direktiva (EU) 2018/851 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 30. maja 2018 o spremembi Direktive 2008/98/ES o odpadkih, UL EU, L150/109

EFFPA. Figures and network. <https://www.effpa.eu/> (maj 2025)

FEFAC. 2021. Factsheet on processed animal protein and their conditions of use in animal feed: http://fefac.eu/wp-content/uploads/2021/08/21_MEMO_15_Feedban.pdf (maj 2025)

Lavrenčič A., Levart A., Salobir J. 2024. Ostanke embalaže in dobre prakse ravnanja z nekdanjimi živali, namenjenimi prehrani živali. V: Zbornik predavanj (elektronski vir) Zdravčevi-Erjavčevi dnevi 14. in 15. november 2024, Radenci, 119-128

Luciano A., Tretola M., Ottoboni M., Baldi A., Cattaneo D., Pinotti L. 2020. Potentials and Challenges of Former Food Products (Food leftover) as Alternative Feed Ingredients. *Animals* 10, 125

Nakaishi T., Takayabu H. 2022. Production efficiency of animal feed obtained from food waste in Japan. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 61187-61203, <https://doi.org/10.2007/s11356-022-20221-1>

- Okoyama T., Watanabe K. 2024. Performance of the Food waste recycling law in Japan with reference to SDG 12.3. Recycling, 9, 18, DOI: <https://doi.org/10.3390/recycling9010018> (maj 2025)
- Pinotti L., Luciano A., Ottoboni M., Manoni M., Ferrari L., Marchis D., Tretola M. 2021. Recycling food leftovers in feed as opportunity to increase the sustainability of livestock production. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126290
- Pinotti L., Manoni M., Fumagalli F., Rovere N., Luciano A., Ottoboni M., Ferrari L., Cheli F., Djuragic O. 2020. Reduce, Reuse, Recycle for Food Waste: A second life for Fresh-Cut Leafy Salad Crops in Animal Diets. *Animals* 10(6), 1082
- Salobir J. 2016. Vlaknina v prehrani prašičev. V: Zbornik predavanj (elektronski vir) Zdravčevi-Erjavčevi dnevi 10. in 11. november 2016, Radenci, 153-160
- Rojas O.J., Liu Y., Stein H.H. 2013. Phosphorus digestibility and concentration of digestible and metabolizable energy in corn, corn coproducts, and bakery meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science* 91, 5326e5335
- Smernice za uporabo živil, ki niso več namenjena prehrani ljudi, v krmi. Obvestilo Komisije. 2018. Uradni list Evropske unije, 2018/C 133/02, letnik 61, 16. april 2018.
- Strategija za manj izgub hrane in odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano »Spoštujmo hrano, spoštujmo planet«. 2021. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, https://www.gov.si/assets/ministrstva/MKGP/PODROCJA/HRANA/Zavrski_odpadna_hrana/Strategija_Spostujmo-hrano_spostujmo-planet.pdf (maj 2025)
- Tretola M., Luciano A., Ottoboni M., Baldi A., Pinotti L. 2019. Influence of traditional vs alternative dietary carbohydrates sources on the large intestinal microbiota in post-weaning piglets. *Animals* (98): 516
- Uredba Evropskega parlamenta in Sveta (ES) št. 999/2001 z dne 22. maja 2001 o določitvi predpisov za preprečevanje, nadzor in izkoreninjenje nekaterih transmisivnih spongiformnih encefalopatij, UL EU, L 147/1
- Uredba (ES) št. 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 28. januarja 2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane, UL L 31
- Uredba (ES) št. 853/2004 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 29. aprila 2004 o posebnih higienskih pravilih za živila živalskega izvora, Uradni list Evropske unije, L 139/33, 30. april 2004.
- Uredba (ES) št. 1069/2009 evropskega parlamenta in Sveta z dne 21. oktobra 2009 o določitvi zdravstvenih pravil za živalske stranske proizvode in pridobljene proizvode, ki niso namenjeni prehrani ljudi, ter razveljavitvi Uredbe (ES) št. 1774/2002 (Uredba o živalskih stranskih proizvodih), Uradni list Evropske unije, L 300/1, 14.11.2009
- Uredba Komisije (EU) 2017/1017 z dne 15. junija 2017 o spremembi Uredbe Komisije (EU) št. 68/2013 o katalogu posamičnih krmil.
- Uredba Komisije (EU) 2021/1373 z dne 17. avgusta 2021 o spremembi priloge IV k Uredbi (ES) Evropskega parlamenta in sveta št. 999/2001 v zvezi s prepovedjo krmljenja rejnih neprežvekovalcev, ki niso kožuharji, z beljakovinami, pridobljenimi iz živali, Uradni list EU, L 295/1
- Uredba komisije (EU) št. 142/2011 z dne 25. februarja 2011 o izvajanju Uredbe (ES) št. 1069/2009 Evropskega parlamenta in Sveta o določitvi zdravstvenih pravil za živalske stranske proizvode in pridobljene proizvode, ki niso namenjeni prehrani ljudi, ter izvajanju Direktive Sveta 97/78/ES glede nekaterih vzorcev in predmetov, ki so izvzeti iz veterinarskih pregledov na mejah v skladu z navedeno direktivo, UL EU, L 54/1
- WRAP. 2016. Guidance for food and drink manufacturers and retailers on the use of food surplus as animal feed. <https://wrap.org.uk/resources/guide/animal-feed-guidance> (maj 2025)

OSNOVE HIPERSPEKTRALNEGA SLIKANJA IN NJEGOVA UPORABA V ŽIVILSTVU

Belmin LISIČIĆ¹, Nataša POKLAR ULRIH², Matija MILANIČ³ in Iztok PRISLAN⁴

Povzetek: Hiperspektralno slikanje je inovativna tehnika, ki združuje spektroskopijo in konvencionalno slikanje, omogoča pridobitev prostorske ter spektralne informacije o vzorcu istočasno. HSI uporablja širok spektralni razpon, ki zajema več sto valovnih dolžin, kar omogoča podrobno analizo različnih materialov glede na njihove spektralne lastnosti. Ta metoda je v zadnjem času postala zelo pomembna v različnih znanstvenih disciplinah, prav tako v živilstvu, kjer omogoča neinvazivno in hitro spremljanje kakovosti ter varnosti živil v realnem času. Za razliko od tradicionalnih analitskih metod, ki pogosto zahtevajo pripravo vzorcev, uporabo kemikalij in veliko časa, lahko hiperspektralno slikanje v hipu poda vpogled v več parametrov kakovosti hkrati. Ta sposobnost je še posebej dragocena v živilsko predelovalnem sektorju, kjer sta sprotno spremljanje in analiza velikega števila vzorcev ključnega pomena. Od zaznavanja tujkov na proizvodnih linijah, ocenjevanja zrelosti sadja, prepoznavanja kemičnih onesnaževalcev – hiperspektralno slikanje izkazuje izjemno vsestranskost v celotni verigi oskrbe z živi. Njegova sposobnost vizualizacije prostorske porazdelitve kemijskih spojin v živilih omogoča neprimerljiv vpogled v sestavo in strukturo živil, kar omogoča sprejemanje bolj informiranih odločitev pri predelavi živil.

Ključne besede: hiperspektralno slikanje, procesiranje slik, kemometrija, nedestruktivna analiza, spremljanje kakovosti

FUNDAMENTALS OF HYPERSPECTRAL IMAGING AND ITS APPLICATION IN FOOD SCIENCE

Abstract: Hyperspectral imaging is an innovative technique that combines spectroscopy and conventional imaging, enabling the simultaneous acquisition of spatial and spectral information of a sample. Hyperspectral imaging uses a wide spectral range that spans hundreds of wavelengths, allowing for detailed analysis of various materials based on their spectral properties. This method has recently become very important in multiple scientific disciplines, including the food industry, where it allows for non-invasive and rapid monitoring of food quality and safety in real-time. Unlike traditional analytical methods, which often require sample preparation, using chemicals, and much time, hyperspectral imaging can provide immediate insights into multiple quality parameters at once. This capability is especially valuable in the food processing sector, where real-time monitoring and analysis of numerous samples is crucial. From detecting foreign objects on production lines, assessing fruit ripeness, and identifying chemical contaminants, hyperspectral imaging demonstrates exceptional versatility throughout the food supply chain. Its ability to visualize the spatial distribution of chemical compounds in food provides unparalleled insight into the composition and structure of food, enabling more informed decisions in food processing.

Keywords: hyperspectral imaging, image processing, chemometrics, non-destructive analysis, quality monitoring

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

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

³ izr. prof. dr. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Oddelek za fiziko, Jadranska ulica 19, Ljubljana, email: matija.milanic@fmf.uni-lj.si

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

1 KAJ JE HIPERSPEKTRALNO SLIKANJE

V današnjem hitro-razvijajočem se okolju so inovativne slikovne tehnike korenito spremenile naš pogled na svet in njegovo analizo. Med te napredke sodi tudi hiperspektralno slikanje kot močno analitsko orodje, ki je preoblikovalo številna znanstvena področja (Gowen in sod., 2007). Hiperspektralno slikanje (HSI) predstavlja združitev spektroskopije in konvecionalnega slikanja s katerim dobimo prostorsko in spektralno informacijo o opazovanem vzorcu (Zhao in sod., 2017a). Običajni slikovni sistemi običajno zajemajo podatke v treh kanalih (rdeči, zeleni, modri), hiperspektralno slikanje pridobi spektralne informacije iz širokega območja valovnih dolžin (več sto valovnih dolžin) (Lu in Peng, 2006). Pri hiperspektralnem slikanju se spektralna informacija pridobi za vsako točko slike, kar ustvari tridimenzionalno podatkovno strukturo, imenovano hiperkocka — sestavljena je iz dveh prostorskih in ene spektralne dimenzije (Ma in sod., 2019).

Osnovno načelo na katerem temelji HSI je, da različne vrste materialov odbijajo (reflektirajo), sipajo, emitirajo in absorbirajo elektromagnetno valovanje različno pri specifičnih valovnih dolžinah, zaradi razlik v njihovi kemijski sestavi in fizikalni strukturi. Ta lastnost je znana kot spektralni podpis ali spekter in je edinstvena za vsak objekt. Sistemi za hiperspektralno slikanje lahko pridobijo informacije za široko območje elektromagnetnega valovanja od približno 200 nm (ultravijolično) do 2500 nm (bližnje infrardeče območje – NIR) (Vadivambal in Jayas, 2015). Spektralna informacija je posledica fizikalne strukture ter kemijske sestave vzorca (Ma in sod., 2019).

Za potrebe živilstva se najpogosteje uporabljajo sistemi s spektralnim območjem med 900 in 1700 nm ter med 380 in 800 nm. Hiperspektralno slikanje se lahko izvaja na več načinov kot so reflektančno, emisijsko ter transmitančno HSI. Reflektanca je najbolj pogosto uporabljen način v vidnem/ bližnjem infrardečem (VIS/NIR) (400 – 1000 nm) ali NIR (1000 – 1700 nm) območju. Reflektančno HSI se pogosto uporablja za identifikacijo različnih poškodb, kontaminant ter za spremljanje parametrov kakovosti kmetijskih in živilskih surovin. Pri fluorescenčnem HSI se spremlja fluorescenca po absorpciji svetlobe pri specifični valovni dolžini. Sprememba v fluorescenci je lahko posledica mnogih dejavnikov kot so fekalna kontaminacija ali okužba s patogenom ter intrinzičnih sprememb v lastnostih izdelka kot posledica kontaminacije (Vadivambal in Jayas, 2015).

Pri transmisijem HSI je kamera postavljena nasproti vira svetlobe (pri reflektančnem pa je na isti strani) in zajema prepuščeno svetlobo skozi vzorec. Transmitančno HSI je lahko manj občutljiva metoda na površinske lastnosti, in zato boljša pri zaznavanju sestave in notranjih nepravilnosti kakor reflektančno HSI (Munera in sod., 2019). Zato je transmisijsko HSI bolj učinkovita metoda pri zaznavanju notranjih poškodb in oceni notranjih lastnosti bioloških materialov v realnem času (Munera in sod., 2019; Vadivambal in Jayas, 2015).

2 DELOVANJE HIPERSPEKTRALNE KAMERE

Hiperspektralna kamera je sestavljena iz 3 glavnih komponent:

- vir svetlobe, ki enakomerno presvetli opazovani objekt,
- disperzni elementi, ki ločijo svetlobo na posamezne valovne dolžine,
- detektor, ki zazna svetlobo in jo pretvori v električni signal.

2.1 SVETLOBNI VIRI

Med najbolj uporabljanimi viri so halogenske žarnice, ki pokrivajo vidni in NIR del spektra elektromagnetnega valovanja. Uporabne so za številne namene predvsem, ker so njihovi spektri gladki in brez ostrih vrhov. Njihove slabosti so kratka življenjska doba ter premiki spektralnih vrhov povzročeni s temperaturnimi in napetostnimi spremembami (Ma in sod., 2019).

Poleg halogenskih žarnic se v HSI sistemih uporabljajo tudi LED žarnice, predvsem zaradi svoje majhne velikost, hitrega odziva, dolge življenjske dobe, nizke cene ter porabe energije. Z njimi lahko ustvarimo svetlobo različne intenzitete od ultravijoličnega (UV) do infrardečega območja. Omejitve predstavljata slaba učinkovitost odvajanja toplote ter odvisnost življenjske dobe od visoke okoljske temperature (Park in sod., 2011).

2.2 DISPERZNI ELEMENTI

Disperzne naprave so ključne komponente sistemov za hiperspektralno slikanje, ki polikromatsko svetlobo razpšijo v različne valovne dolžine. Pri HSI sistemih se najbolj pogosto uporabljajo prizme in uklonske mrežice (Wu in Sun., 2013).

2.3 DETEKTORJI

Detektorji so fotoobčutljivi elementi, ki imajo sposobnost kvantifikacije intenzitete svetlobe s transformiranjem svetlobnih signalov v analogne signale (električni tok). Poznamo CCD (ang. charge coupled device) ter CMOS (ang. complementary metal-oxide semiconductor), ki sta sestavljena iz fotodiod. Razlika med tema dvema tipoma je v načinu prenosa signala. CCD ima večjo občutljivost, ločljivost v primerjavi s CMOS. Slednji pa ima manjši šum (Ma in sod., 2019).

2.4 NAČINI SLIKANJA

Hiperspektralne kamere lahko zajemajo sliko na načine kot so:

- Točkovno zajemanje - snemanje spektralne informacije v sliki piksel po piksel. Primerna za pridobivanje stabilnih hiperspektralnih slik z visoko spektralno ločljivostjo, a z majhno hitrostjo zajemanja.
- Linijsko zajemanje - najbolj pogosta strategija zajemanja. Z lineranim premikanje detektorja ali vzorca se kontinuirno zajema ena po ena linija, vključno s spektralno informacijo.
- Snapshot - s to metodo pridobimo vso spektralno in prostorsko informacije istočasno (z eno samo ekspozicijo).
-

Hitrost zajemanja je največja, a je prostorska in spektralna ločljivost še nezadostna za doseganje potreb živilske industrije (Nicolai in sod., 2007).

Pridobljene hiperspektralne slike se nato obdelajo z različnimi kemometrijskimi metodami, s ciljem izluščevanja relevantnih informacij ter identifikacije valovnih dolžin, ki imajo ključen pomen za obravnavani problem.

3 PRIMERI UPORABE HSI V ŽIVILSTVU

V živilski industriji se brezkontaktna, nedestruktivna in kontinuirna optična tehnika izkazuje kot izjemno uporabna za sprotno spremljanje kakovosti in varnosti živil v realnem času (Ma in sod., 2019). S hitrim razvojem računalništva, ostalih sorodnih disciplin ter izboljšav optičnih senzorjev je prišlo do znatnega napredka na področju uporabe HSI v živilstvu (Ma in sod., 2019).

3.1 OCENA KAKOVOSTI IN ZAZNAVANJE POŠKODB

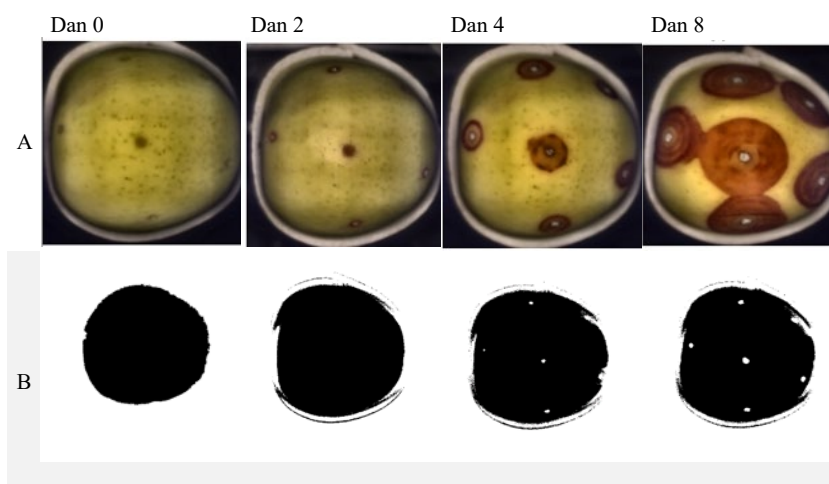
HSI se uporablja za ocenjevanje lastnosti kot so zrelost, tekstura, barva, trdota. Že na podlagi spektralne informacije iz vidnega dela spektra so lahko razvrstili paradižnik v več zrelostnih razredov. HSI je lahko alternativa testu s škrobovico, ki se rutinsko uporablja za spremljanje dozorevanja jabolka, saj se škrob med zorenjem razgrajuje v sladkorje (Lu in sod., 2020).

Detekcija poškodb, še posebej pri sadju in zelenjavi je lahko težavna, zaradi širokega nabora morfoloških in fizioloških pojavov. Hortikulturni izdelki so podvrženi številnim fiziološkim motnjam, ki se razvijajo po obiranju zaradi različnih notranjih ali zunanjih stresorjev kot so ekstremne temperature, pomanjkanje hranil, senescenca. Razen površinskih ali vizualnih defektov, ostale tipe poškodb težko zaznamo s prostim očesom ali pa so celo popolnoma nevidni človeku, odvisno od stopnje poškodovanosti. S hiperspektralno kamero lahko zaznamo številne površinske in podpovršinske poškodbe z implementacijo primerne načina hiperspektralnega slikanja. Primer uporabe HSI pri zaznavanju poškodb je pri kumarah (poškodbe izzvane s hlajenjem). Zgodnje zaznavanje poškodb induciranih s hlajenjem je zahtevno, zaradi odsotnosti vidnih simptomov (Lu in sod., 2020).

3.2 DETEKCIJA KONTAMINACIJ IN TUJKOV

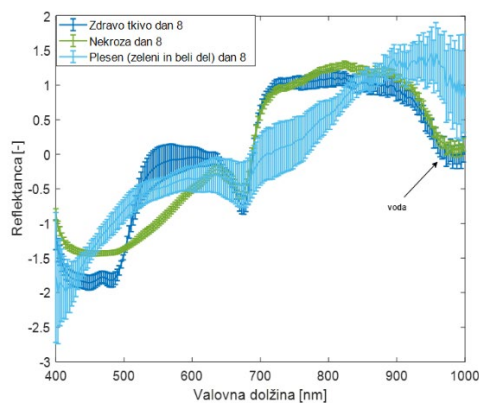
Detekcija kontaminacij in tujkov predstavlja ključen vidik zagotavljanja varnosti živil, pri čemer se hiperspektralno slikanje (HSI) vse pogosteje uveljavlja kot učinkovito orodje za natančno in neinvazivno identifikacijo neželenih snovi. Z uporabo fluorescenčnega HSI lahko zaznamo fekalno kontaminacijo na jabolkah z merjenjem fluorescence pri 4 valovnih dolžinah (450, 530, 685 in 735 nm). Pri analizi lahko upoštevamo razmerja med signali omenjenih valovnih dolžin in na ta način zmanjšamo razlike v obarvanosti sadja in olajšamo segregacijo kontaminiranih točk na vzorcih (Lu in sod., 2020).

Hiperspektralno slikanje (HSI) omogoča učinkovito spremljanje rasti plesni *Penicillium expansum* na različnih sortah jabolk. Tovrstno raziskavo smo opravili v naših laboratorijih, kjer smo jabolka poškodovali ter na mesto poškodobe inokulirali suspenzijo plesni. Sledila je 8-dnevna inkubacija, med katero smo zajemali slike vsak dan. Vizualni potek rasti plesni skozi čas je prikazan na sliki 1A.



Slika 2: Vizualni potek rasti plesni *P.expansum* na sorti jabolk 'Zlati delišes' skozi čas (A) ter rezultati klasifikacije plesni od ostalih regij na jabolku (B)

Za detekcijo plesni kot ključne valovne dolžine so identificirane 496 nm pri sorti 'Zlati delišes' ter 403 nm in 847 nm pri rdeči sorti 'Evelina'. Te valovne dolžine so bile uporabljene za ločevanje plesni od zdravega ter nekrotičnega tkiva jabolka. Rezultati klasifikacije plesni na osnovi spektralnih značilnosti so prikazani na sliki 1B. Plesen je vidna kot zeleno-belo obarvano območje. Različna obarvnost je predvsem posledica stopnje razvoja plesni. Z nastajanjem spor se barva plesni spremeni iz bele v zelenkasto. Na sliki 2 so prikazani povprečni spektri plesni, zdravega in nekrotičnega tkiva osmega dneva inkubacije.



Slika 3: Povprečni spektri plesni, nekrotičnega in zdravega tkiva tretiranega vzorca jabolk sorte 'Zlati delišes' (osmi dan inkubacije)

Največje razlike med plesnijo in zdravim tkivom so bile opažene v modrem in bližnjem infrardečem (NIR) območju, pri čemer se okoli 960 nm pojavi značilna absorpcija, povezana z vsebnostjo vode. Povišana reflektanca pri 675 nm v primerjavi s prešnjimi dnevi (ni prikazano) nakazuje na izgubo klorofila s časom pri jabolkah, medtem ko znižana reflektanca pri 558 nm odraža porjavenje zaradi oksidacije fenolnih spojin, ki ob prisotnosti kisika in encimov, kot je polifenol oksidaza, vodijo v nastanek melaninu podobnih pigmentov (Lisičić, 2023).

3.3 POTVORBE ŽIVIL

Na globalnem trgu, kjer je problem potvarjanja živil vedno večja skrb, si lahko danes pomagamo z uporabo HSI pri preverjanju pristnosti izdelkov. HSI je pokazal močan potencial pri detekciji potvorb mleka v prahu z melaminom, kjer tradicionalne metode (Kjeldahl, Dumas) odpovedo. S kombinacijo ramanskega in NIR hiperspektralnega slikanja lahko detektiramo potvorbo na podlagi spektralnih značilnosti melamina, predvsem zaradi njegovega ramanskega vrha pri 670 cm^{-1} . S kombinacijo teh dveh tehnik točnost klasifikacije še povečamo (Feng in Sun, 2012).

Podobno je HSI dokazalo svojo učinkovitost pri kvantifikaciji drugih primesi, kot je apnenec v tapiokinem škrobu (Khamsopha in sod., 2021). Študija o detekciji potvorb medu manuka (Phillips in Abdulla, 2023) je pokazala, da lahko HSI v kombinaciji z algoritmi strojnega učenja doseže točnost nad 95 % pri razlikovanju med čistim medom in tistim, ki vsebuje dodan sladkorni sirup.

Ribiški sektor se sooča z naraščajočimi izzivi na področju prepoznavanja potvorb, zlasti pri razlikovanju med svežimi in predhodno zamrznjenimi izdelki ter pri ugotavljanju geografskega porekla. Nedavna raziskava (Espandíu in sod., 2024) je dokazala izjemno učinkovitost UV-NIR HSI, ki s točnostjo okoli 98 % uspešno razlikuje med svežimi in odtajanimi sardelami ter med primerki iz Kantabrijskega in Sredozemskega morja.

3.4 SPREMLJANJE PROCESOV PREDELAVE

Spremljanje tehnoloških procesov v živilski industriji je ključnega pomena za zagotavljanje stalne kakovosti izdelkov. HSI omogoča neinvazivno in časovno učinkovito spremljanje sprememb, ki nastopajo med različnimi fazami predelave živil.

Sušenje je konvencionalna metoda konzerviranja živil in se pogosto uporablja tudi pri predelavi čaja. S hiperspektralnim slikanjem v območju VIS–NIR so spremljali spremembe barvnih komponent (L^* , a^* , b^*) čajnih listov med različnimi fazami sušenja (Xie in sod., 2014). Pri sušenju manga z mikrovalovno–vakuumsko metodo je HSI razkrilo, da je bila vsebnost vlage v sredini manga nižja kot na obrobju (Pu in Sun, 2015; Pu in Sun 2016; Pu in Sun, 2017). Med postopkom liofilizacije ribjih filejev je bilo s HSI uspešno spremljano spreminjanje vsebnosti vlage, teksturnih značilnosti ter procesa dehidracije in rehidracije (Qu in sod., 2017; Ma in sod., 2017a; Ma in sod., 2017b).

3.5 KEMIJSKA SESTAVA

Z analizo spektrov je mogoče oceniti vsebnost ključnih hranil, vključno z vsebnostjo vode beljakovin, maščob v različnih živilih, kar omogoča lažji nadzor nad kakovostjo živil.

HSI se pogosto uporablja za napovedovanje vsebnosti ogljikovih hidratov v sadju in zelenjavi, pri čemer se vsebnost topne trdne snovi (SSC) pogosto uporablja kot pokazatelj vsebnosti sladkorjev. Vsebnost SSC v jabolkih je bila uspešno ocenjena v spektralnem območju med 400 in 2500 nm s točnostjo nad $R > 0,93$ (Fan in sod., 2016a; Fan in sod., 2016b; Ma in sod., 2017d), medtem ko so pri hruškah dosegli $R = 0,99$ (Li in sod., 2016). Podobne študije so bile izvedene na breskvah, bananah, agrumih ter krompirju. Vsebnost prehranskih vlaknin v zeleni so napovedovali s točnostjo $R = 0,96$ (netopne) in $0,98$ (topne) (Yan in sod., 2017).

Maščoba pomembno vpliva na energijsko vrednost, kakovost ter senzorične lastnosti živil. HSI se je izkazalo kot zelo učinkovito orodje za ocenjevanje vsebnosti maščob v mesu in mesnih izdelkih. Na primer, vsebnost maščobe

v mleti govedini je bila z metodo delnih najmanjših kvadratov (PLSR) zanesljivo ocenjena, pri čemer je bila dosežena visoka točnost napovedi ($R^2 = 0,99$) (Zhao in sod., 2017b). HSI je bilo uporabljeno tudi za oceno maščobnokislinske sestave v intramuskularni maščobi jagnjetine (Craigie in sod., 2017). Poleg tega pa so bile z visoko točnostjo ocenjene tudi vsebnosti maščob v arašidih in kavnih zrnih (Caporaso in sod., 2018; Yu in sod., 2016). Ker med skladiščenjem mesa prihaja do oksidacije maščob, se kot kazalnik svežine pogosto uporablja vsebnost 2-tiobarbiturne kisline (TBA), ki odraža stopnjo lipidne oksidacije. Z uporabo HSI je bilo mogoče uspešno oceniti vsebnost TBA v vzorcih svinjine, kar potrjuje uporabnost te metode za neinvazivno spremljanje kakovosti mesa med skladiščenjem (Wu in sod., 2016).

Poleg maščob, HSI omogoča tudi natančno oceno vsebnosti beljakovin, ki igrajo ključno vlogo pri teksturi, okusu in obnašanju živil med predelavo. Raziskave so pokazale, da je mogoče z uporabo klasifikacijskih modelov v spektralnem območju med 900 in 1700 nm učinkovito ločiti med beljakovinami različnih vrst mesa (svinjina, perutnina, ribe) (Garrido-Novell in sod., 2018). HSI je omogočilo zaznavo strukturnih sprememb miofibrilarnih beljakovin med postopkom zmrzovanja, pri čemer so bili razviti napovedni modeli za oceno aktivnosti encima Ca^{2+} -ATPaze ter površinske hidrofobnosti (S0ANS) (Cheng in sod., 2018). Svežino mesa je mogoče ovrednotiti tudi z merjenjem vsebnosti skupnega hlapnega bazičnega dušika (TVB-N), ki nastaja kot produkt razgradnje beljakovin med skladiščenjem. Ta pristop se je izkazal za uspešnega pri različnih vrstah mesa, vključno z ribami, svinjino, piščancem (Cheng in sod., 2014; Lee in sod., 2018; Khulal in sod., 2017).

4 ZAKLJUČEK IN PRIHODNOST

HSI se je prvotno razvilo za namene daljinskega zaznavanja predmetov na zemeljski površini, sedaj pa postaja ena izmed potencialno zelo uporabnih tehnik za hitro, brezdotično in nedestruktivno spremljanje kakovosti in varnosti živil. Uporaba HSI se raziskuje na širokem spektru živil za različne namene kot so ocena parametrov kakovosti, kemijske sestave, detekcije potvorb. Tudi rezultati naše raziskave, v kateri smo spremljali rast plesni *P. expansum* na jabolkih kaže na potencial HSI za nadzor kakovosti in varnosti sadja. Detekcijo plesni na jabolkih nam omogočajo unikatne spektralne značilnosti plesni, ki so specifične za posamezno sorto jabolka. Tako se je na primer pri sorti 'Zlati delišes' za ločevanje plesni od zdravega in nekrotičnega tkiva kot ključna izkazala valovna dolžina pri 496 nm.

Iz trodimenzionalne hiperspektralne slike lahko pridobimo obilico fizikalno-kemijskih informacij o živilih. Za boljše razumevanje HSI lahko raziskovalci uporabijo številne matematične algoritme.

Prihodnji razvoj HSI bi lahko vključeval njeno integracijo z drugimi nedestruktivnimi tehnikami, kot sta elektronski nos in ultrazvočno slikanje. Pomemben korak naprej predstavlja tudi izboljšava obstoječih algoritmov za obdelavo slik. Ključnega pomena bo omogočanje učinkovitega deljenja hiperspektralnih podatkov med raziskovalnimi skupinami po svetu, kar bi še dodatno pospešilo razvoj in širšo uporabo HSI.

5 VIRI

- Caporaso N., Whitworth M.B., Grebbly S., Fisk I.D. 2018. Rapid prediction of single green coffee bean moisture and lipid content by hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 227: 18–29
- Cheng J-H., Sun D-W., Zeng X-A., Pu H-B. 2014. Non-destructive and rapid determination of TVB-N content for freshness evaluation of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by hyperspectral imaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21: 179–187
- Cheng W., Sun D-W., Pu H., Wei Q. 2018. Characterization of myofibrils cold structural deformation degrees of frozen pork using hyperspectral imaging coupled with spectral angle mapping algorithm. *Food Chemistry*, 239: 1001–1008
- Craigie C., Johnson P., Shorten P., Charteris A., MacLennan G., in sod., 2017. Application of hyperspectral imaging to predict the pH, intramuscular fatty acid content and composition of lamb *M. longissimus lumborum* at 24 h *post mortem*. *Meat Science*, 132: 19–28

- Esplandiú P.L., Marín-Méndez J.-J., Alonso-Santamaría M., Remírez-Moreno B., Sáiz-Abajo M.-J. 2024. Fraud detection in the fishing sector using hyperspectral imaging. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 32, 3: 69–80, <https://doi.org/10.1177/09670335241258667>.
- Fan S., Zhang B., Li J., Huang W., Wang C. 2016a. Effect of spectrum measurement position variation on the robustness of NIR spectroscopy models for soluble solids content of apple. *Biosystems Engineering*, 143: 9–19
- Fan S., Zhang B., Li J., Liu C., Huang W., Tian X. 2016b. Prediction of soluble solids content of apple using the combination of spectra and textural features of hyperspectral reflectance imaging data. *Postharvest Biology and Technology*, 121: 51–61
- Feng Y.-Z., Sun D.-W. 2012. Application of hyperspectral imaging in food safety inspection and control: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 11: 1039–1058
- Garrido-Novell C., Garrido-Varo A., Pérez-Marín D., Guerrero J.E. 2018. Using spectral and textural data extracted from hyperspectral near infrared spectroscopy imaging to discriminate between processed pork, poultry and fish proteins. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 172: 90–99
- Gowen A., O'Donnell C., Cullen P., Downey G., Frias J. 2007. Hyperspectral imaging – an emerging process analytical tool for food quality and safety control. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 12: 590–598
- Khamsopha D., Woranitta S., Teerachaichayut S. 2021. Utilizing near infrared hyperspectral imaging for quantitatively predicting adulteration in tapioca starch. *Food Control*, 123: 107781, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107781>
- Khulal U., Zhao J., Hu W., Chen Q. 2017. Intelligent evaluation of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in chicken meat by an improved multiple level data fusion model. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 238: 337–345
- Kwak D.-H., Son G.-J., Park M.-K., Kim Y.-D. 2021. Rapid foreign object detection system on seaweed using VNIR hyperspectral imaging. *Sensors*, 21, 16: 5279, <https://doi.org/10.3390/s21165279>
- Lee H., Kim M.S., Lee W.-H., Cho B.-K. 2018. Determination of the total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in pork meat using hyperspectral fluorescence imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259: 532–539
- Li B., Hou B., Zhang D., Zhou Y., Zhao M., in sod., 2016. Pears characteristics (soluble solids content and firmness prediction, varieties) testing methods based on visible-near infrared hyperspectral imaging. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, 127: 2624–2630
- Lisičić B. 2023. Optično zaznavanje razrasta plesni in termična analiza vzorca: Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta
- Lu R., Peng Y. 2006. Hyperspectral scattering for assessing peach fruit firmness. *Biosystems Engineering*, 93, 2: 161–171
- Lu Y., Saeys W., Kim M., Peng Y., Lu R. 2020. Hyperspectral imaging technology for quality and safety evaluation of horticultural products: A review and celebration of the past 20-year progress. *Postharvest Biology and Technology*, 170: 111318, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111318>
- Ma J., Qu J.-H., Sun D.-W. 2017a. Developing hyperspectral prediction model for investigating dehydrating and rehydrating mass changes of vacuum freeze dried grass carp fillets. *Food and Bioprocess Technology*, 104: 66–76
- Ma J., Sun D.-W., Qu J.-H., Pu H. 2017b. Prediction of textural changes in grass carp fillets as affected by vacuum freeze drying using hyperspectral imaging based on integrated group wavelengths. *LWT Food Sci. Technol.* 82:377–85
- Ma J., Sun D.-W., Pu H., Cheng J.-H., Wei Q. 2019. Advanced techniques for hyperspectral imaging in the food industry: Principles and recent applications. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 1: 197–220
- Munera S., Blasco J., Amigo J. M., Cubero S., Talens P., Aleixos N. 2019. Use of hyperspectral transmittance imaging to evaluate the internal quality of nectarines. *Biosystems Engineering*, 182: 54–64
- Nicolai B.M., Beullens K., Bobelyn E., Peirs A., Saeys W., in sod., 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 99–118
- Park B., Yoon S.-C., Windham W.R., Lawrence K.C., Kim M.S., Chao K. 2011. Line-scan hyperspectral imaging for real-time in-line poultry fecal detection. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 5: 25–32
- Phillips T., Abdulla W. 2023. A new honey adulteration detection approach using hyperspectral imaging and machine learning. *European Food Research and Technology*, 249, 2: 259–272

- Pu Y.-Y., Sun D.-W. 2015. Vis-NIR hyperspectral imaging in visualizing moisture distribution of mango slices during microwave-vacuum drying. *Food Chemistry*, 188: 271–278
- Pu Y.-Y., Sun D.-W. 2016. Prediction of moisture content uniformity of microwave-vacuum dried mangoes as affected by different shapes using NIR hyperspectral imaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33: 348–356
- Pu Y.-Y., Sun D.-W. 2017. Combined hot-air and microwave-vacuum drying for improving drying uniformity of mango slices based on hyperspectral imaging visualisation of moisture content distribution. *Biosystems Engineering*, 156: 108–119
- Qu J.-H., Sun D.-W., Cheng J.-H., Pu H. 2017. Mapping moisture contents in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slices under different freeze drying periods by Vis-NIR hyperspectral imaging. *LWT - Food Science and Technology*, 75: 529–536
- Saeidan A., Khojastehpour M., Golzarian M.R., Moonenard M., Khan H.A. 2021. Detection of foreign materials in cocoa beans by hyperspectral imaging technology. *Food Control*, 129: 108242, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108242>.
- Vadivambal R., Jayas D. 2015. *Hyperspectral imaging. V: Bio-imaging: principles, techniques, and applications.* Vadivambal R., Jayas D. (ur.). Boca Raton, CRC Press: 109–147
- Wu D., Sun D.-W. 2013. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: a review—Part I: Fundamentals. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19: 1–14
- Wu X., Song X., Qiu Z., He Y. 2016. Mapping of TBARS distribution in frozen-thawed pork using NIR hyperspectral imaging. *Meat Science*, 113: 92–96
- Xie C.Q., Li X.L., Shao Y.N., He Y. 2014. Color measurement of tea leaves at different drying periods using hyperspectral imaging technique. *PLOS ONE*, 9(12): e113422, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113422>
- Yan L., Xiong C., Qu H., Liu C., Chen W., Zheng L. 2017. Non-destructive determination and visualisation of insoluble and soluble dietary fibre contents in fresh-cut celeries during storage periods using hyperspectral imaging technique. *Food Chemistry*, 228: 249–256
- Yu H., Liu H., Wang N., Yang Y., Shi A., in sod., 2016. Rapid and visual measurement of fat content in peanuts by using the hyperspectral imaging technique with chemometrics. *Analytical Methods*, 8: 7482–7492
- Zhao X., Wang W., Chu X., Li C., Kimuli D. 2017a. Early detection of *Aspergillus parasiticus* infection in maize kernels using near-infrared hyperspectral imaging and multivariate data analysis. *Applied Sciences*, 7, 1: 90
- Zhao M., Esquerre C., Downey G., O'Donnell C.P. 2017b. Process analytical technologies for fat and moisture determination in ground beef: a comparison of guided microwave spectroscopy and near infrared hyperspectral imaging. *Food Control*, 73: 1082–1094

MIKROBIOM FERMENTIRANIH HIŠNIH ČRIČKOV IN LIČINK MOKARJA

Zala PLATEIS¹, Polona JAMNIK², Nik MAHNIČ³, Nataša TOPLAK⁴, Simon KOREN⁵, Nataša POKLAR ULRIH⁶ in Barbara JERŠEK⁷

Povzetek: Užitarne žuželke so eden od alternativnih virov beljakovin. V raziskavi smo proučevali vpliv mlečnokislinske fermentacije na mikrobiološko sliko in metagenom liofiliziranih hišnih čričkov in ličink mokaarja. Izvedli smo tri fermentacije (z bakterijami vrste *Lb. plantarum*, z mesno startersko kulturo, spontana fermentacija). Med vsemi fermentacijami se je znižal pH in povečalo število mlečnokislinskih bakterij. V nobenem vzorcu ni bilo bakterij rodu *Salmonella*, vrst *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ter koagulaza pozitivnih stafilokokov in koliformnih bakterij. Hišni črički so se pred fermentacijo vsebovali več sporogenih bakterij, enterokokov in plesni. Fermentacija je zavrla rast plesni, kvasovk in aerobnih sporogenih bakterij v fermentiranih hišnih čričkih ter rast plesni in kvasovk v fermentiranih ličinkah mokaarja. Skupno število aerobnih in anaerobnih mezofilnih bakterij ter enterokokov se je po vseh treh fermentacijah povečalo v obeh vrstah žuželk. Vzporedno smo s sekvenciranjem 16S rRNA določili, da je bilo pred fermentacijo v hišnih čričkih 151 in v ličinkah mokaarja 66 rodov bakterij. V vzorcih po fermentacijah so prevladovali rodovi bakterij *Lactobacillus*, *Pediococcus* in *Enterococcus* ne glede na vrsto žuželk in ne glede na vrsto fermentacije. Podrobnejša analiza je pokazala, da so imele avtohtone bakterije vrst *Ped. pentosaceus*, *Lb. graminis*, *Lb. sakei* ter *Ent. faecalis* pri hišnih čričkih in *Ent. avium* pri ličinkah mokaarja pomembno vlogo pri vseh fermentacijah.

Ključne besede: alternativni viri beljakovin, žuželke, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*

MICROBIOME OF FERMENTED HOUSE CRICKETS AND MEALWORM LARVAE

Abstract: Edible insects are one of the alternative sources of protein. We studied the effect of lactic acid fermentation on the microbiological profile and metagenome of freeze-dried house crickets and mealworm larvae. We performed three fermentations (with *Lb. plantarum*, with meat starter culture, spontaneous fermentation). During all fermentations, the pH decreased and the number of lactic acid bacteria increased. None of the samples contained *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, coagulase-positive staphylococci, and coliform bacteria. House crickets contained more sporogenic bacteria, enterococci, and moulds before fermentation. Fermentation inhibited the growth of moulds, yeasts, and aerobic sporogenic bacteria in fermented house crickets, and the growth of moulds and yeasts in fermented mealworm larvae. The total number of aerobic and anaerobic mesophilic bacteria and enterococci increased in both insects after all three fermentations. In parallel, we determined by 16S rRNA sequencing that before fermentation there were 151 and 66 bacterial genera in house crickets in mealworm larvae, respectively. In the samples after fermentation, *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Enterococcus* dominated, regardless of the insect species and the type of fermentation. A more detailed analysis showed that the indigenous bacteria of *Ped. pentosaceus*, *Lb. graminis*, *Lb. sakei* and *Ent. faecalis* in house crickets and *Ent. avium* in mealworm larvae played an important role in all fermentations.

Keywords: alternative protein sources, insects, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*

¹ mag. ing. živil., Gospodarska zbornica Slovenije, Dimičeva ulica 13, Ljubljana, e-mail: zala.plateis@gzs.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana

³ mag. ing. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: nik.mahnic@bf.uni-lj.si

⁴ dr., Omega d.o.o., Dolinškova ulica 8, Ljubljana, e-mail: natasa.toplak@omega.si

⁵ dr., Omega d.o.o., Dolinškova ulica 8, Ljubljana, e-mail: simon.koren@omega.si

⁶ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: natasa.poklar@bf.uni-lj.si

⁷ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: barbka.jersek@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Svetovna populacija bi naj do leta 2050 dosegla 10 milijard ljudi. Posledica tega bo med drugim povečanje potreb po hrani. Zaradi omejenosti kmetijskih površin, tradicionalna živinoreja ne bo mogla dohajati rasti prebivalstva, kar posledično pomeni iskanje alternativnih virov beljakovin (Van Huis, 2016). V zadnjem desetletju je ideja o vključevanju užitnih žuželk v prehrano postala zelo priljubljena, saj lahko pomagajo pri rešitvi okoljskih in prehranskih izzivov, vključno s podnebnimi spremembami in lakoto (Aidoo in sod., 2023). Glavna prednost vključevanja žuželk v prehrano je njihova stopnja pretvorbe izražena kot masa zaužite krme na enoto pridobljene živalske mase. Ta stopnja pretvorbe je za žuželke večja kot pri kateri koli drugi živali. Črčki za pridobitev 1 kg telesne mase potrebujejo manj kot 2 kg krme, medtem ko piščanci za pridobitev 1 kg telesne mase potrebujejo 2,5 kg krme, svinje 5 kg ter govedo tudi do 10 kg krme. Še ena prednost žuželk kot vira hrane je velik odstotek živali, ki ga je mogoče zaužiti. Do 80 % črčka je užitnega, v primerjavi s 55 % prašiča in kokoši ter 40 % goveda (Lange in Nakamura, 2023).

Kljub veliko pozitivnim lastnostim žuželk, je potrebno posebno pozornost posvetiti varnosti živil, ki bi vsebovala žuželke. Na varnost živil in živilskih sestavin iz žuželk lahko vplivajo užitnost žuželk samih, kontaminacija s patogeni, kvarjenje med shranjevanjem in alergeni. Žuželke, ki so namenjene humani prehrani, sodijo med nova živila. Nova živila so živila in živilske sestavine, ki se pred 15. majem 1997 v prehrani ljudi na območju Evropske unije (EU) niso uporabljala v večjem obsegu in morajo biti pred dajanjem na trg odobrena po evropskem postopku odobritve (Uredba (EU) 2015/2283).

Fermentacija živil z mlečnokislinskimi bakterijami je ena izmed najstarejših oblik biološkega konzerviranja živil ter tudi danes zelo pogosto uporabljena metoda, predvsem zaradi mnogih aktivnosti mlečnokislinskih bakterij proti kvarljivcem in patogenim mikroorganizmom (Zapašnik in sod., 2022). Metabolni produkti mlečnokislinskih bakterij zavirajo rast in razmnoževanje patogenih mikroorganizmov ter ovirajo delovanje kvarljivih mikroorganizmov. S fermentacijo se poveča aktivnost encimov, ki vplivajo na hidrolizo polisaharidov, beljakovin in maščob, kar poveča biološko dostopnost hranil. Prav tako se zaradi aktivnosti encimov zmanjša vsebnost antinutritivnih spojin kot so fitinska kislina in tanini, kar vpliva na boljšo biorazpoložljivost mineralov. Zaradi fermentacije se poveča tudi biorazpoložljivost vitaminov in antioksidativna aktivnost.

2 MIKROBIOTA UŽITNIH ŽUŽELK

Uvedba novega živila zahteva tudi oceno tveganja, pri čemer so pomembna mikrobiološka tveganja, kot so prisotnost mikroorganizmov, njihovih toksinov ali metabolitov. Žuželke so, zaradi visoke vsebnosti vode in hranil, ugodno okolje za rast mikrobov, kar povečuje tveganje, predvsem pri surovih in celih žuželkah, katerih prebavni trakt predstavlja potencialni vir mikrobioloških nevarnosti. Toplotna obdelava, kot so sterilizacija, pasterizacija in blanširanje, so zato ključni postopki za zmanjšanje teh tveganj (Caparros Megido in sod., 2017).

Mikrobiota žuželk običajno vključuje številne bakterije kot so bakterije rodov *Proteus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* in *Acinetobacter*. Poleg teh so v nepredelanih žuželkah in živilih na osnovi žuželk lahko prisotne tudi patogene bakterije, kot so bakterije rodov *Campylobacter* in *Salmonella* ter vrst *Listeria monocytogenes* in verotoksične *Escherichia coli*, če v predelavi niso uporabljeni ustrezni postopki mikrobne inaktivacije (Gałęcki in sod., 2023). Na mikrobioto žuželk vplivajo številni dejavniki, vključno z vrsto žuželk, njihovo krmo, okoljem in načinom gojenja ter postopki stradanja in nadaljnjo obdelavo ter skladiščenjem.

Namen raziskave je bil določiti vpliv fermentacije na mikrobiološko sliko hišnih črčkov (*Acheta domestica*) in ličink mokařja (*Tenebrio molitor*) določeno s klasičnimi mikrobiološkimi preiskavami vzorcev ter vzporedno metagenomsko analizo.

3 MATERIAL IN METODE

Liofilizirane hišne črčke (*Acheta domesticus*) in ličinke mokařja (*Tenebrio molitor*) so vzgojili in pripravili v vzrejnem centru Univerze v Pragi (Department of Zoology and Fisheries, Czech University of Life Sciences Prague). Za pripravo žuželčje paste smo liofiliziranim vzorcem dodali sterilno destilirano vodo (razmerje žuželke:voda = 1:1,5). Vzorce smo inokulirali (1 %) z dvema različnima starterskima kulturama (bakterije vrste *Lactobacillus plantarum* ter z mesno startersko kulturo Bactofem SM-194 (Chr. Hansen Holding, Danska), ki vsebuje kvasovke vrste *Debaryomyces hansenii* in mlečnokislinske bakterije vrst *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus* in *Staph. xylosus*). Vsi vzorci so 48 ur fermentirali pri 30 °C v delno anaerobnih razmerah. Vzporedno smo izvedli tudi spontano fermentacijo, kjer vzorcem žuželk nismo dodali nobene starterske kulture.

Fermentacije smo spremljali z meritvami pH žuželčje paste ter s štetjem mlečnokislinskih bakterij. Mikrobiološke preiskave smo izvedli za vzorce žuželčje paste obeh vrst žuželk pred ter po vseh treh fermentacijah. Določili smo kvalitativno bakterije rodu *Salmonella* in vrste *Listeria monocytogenes* ter števila bakterij vrst *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, aerobnih in anaerobnih mezofilnih mikroorganizmov, aerobnih in anaerobnih spirogenih mezofilnih mikroorganizmov, koagulaza pozitivnih stafilokokov, koliformnih bakterij, enterokokov ter plesni in kvasovk (Plateis, 2024). Vzporedno smo iz vzorcev pred fermentacijami in po njih izolirali DNA z uporabo kompleta za ekstrakcijo DNK (DNeasy PowerSoil Pro Kit, Qiagen). Za metagenomsko analizo 16S rRNA je bil uporabljen Ion 16S Metagenomics Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), kar je vključevalo pomnoževanje sedmih hipervariabilnih regij gena *16S rRNA* (V2, V3, V4, V6–7, V8 in V9) in pripravo knjižnic. Sledilo je sekvenciranje na sistemu Ion GeneStudio™ S5 Prime (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Obdelava rezultatov je bila izvedena s programsko opremo Torrent Suite 5.18, in Ion Reporter Software 5.18. Rezultate smo podali kot OTU (operativna taksonomska enota), kadar so bili določeni v več kot 10 kopijah, ter jih izrazili z RP (relativna pogostost).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 FERMENTACIJA IN MIKROBIOLOŠKE PREISKAVE ŽUŽELK

Pasto liofiliziranih hišnih črčkov smo fermentirali na tri različne načine ter spremljali potek fermentacije z meritvami pH in določitvijo števila mlečnokislinskih bakterij (Preglednica 1, Preglednica 2). Na fermentabilnost je vplivala vrsta žuželk, saj so se žuželke med seboj razlikovale po njihovi avtohtoni mikrobnii sestavi. Med različnimi fermentacijami (z bakterijami vrste *Lb. plantarum*, z mesno startersko kulturo, spontana fermentacija) nismo ugotovili bistvene razlike. Zmanjšanje vrednosti pH po 48-urni fermentaciji je bilo v vseh vzorcih majhno (0,5-0,7). V pasti iz liofiliziranih hišnih črčkov in ličink mokařja je na majhen padec pH verjetno vplivala velike vsebnosti beljakovin v žuželkah. Pri hišnih črčkih je 60-64 % beljakovin v suhi snovi, pri ličinkah mokařja pa 50-53 % (Messina in sod., 2019). Proteini med drugim vplivajo na pufersko kapaciteto medija, saj lahko proste amino skupine proteinov, peptidov in aminokislin vežejo proste protone v matrici. Rešitev tega problema bi lahko bil dodatek vira ogljikovih hidratov v biomaso žuželk, kar bi povečalo hitrost fermentacije ter tako njeno učinkovitost.

V vzorcih liofiliziranih hišnih črčkov in ličinkah mokařja pred in po fermentacijah nismo določili bakterij rodu *Salmonella* in vrst *L. monocytogenes* (v 10 g paste), *E. coli*, *B. cereus*, *Cl. perfringens*, koagulaza pozitivnih stafilokokov in koliformnih bakterij (<2 log CFU/g).

Pred fermentacijo smo ugotovili, da hišni črčki (Preglednica 1) vsebujejo več spirogenih bakterij, enterokokov in plesni kot ličinke mokařja (Preglednica 2). Tudi drugi raziskovalci so v liofoliziranih hišnih črčkih določili relativno veliko spirogenih bakterij (3,1-4,2 log CFU/g; Vandeweyer in sod., 2017) in enterokokov (4,9-5,1 logCFU/g; Messina in sod., 2019). Spirogenih bakterij nismo določili v ličinkah mokařja, medtem ko je bilo število enterokokov (Preglednica 2) večje kot v primerljivih vzorcih liofiliziranih ličink mokařja (3,5 log CFU/g; Messina in sod., 2019).

Po 48-urni fermentaciji se je število mikroorganizmov, ki smo jih določili v vzorcih pred fermentacijo, pri obeh liofiliziranih žuželkah povečalo. To velja za skupno število anaerobnih in aerobnih mezofilnih bakterij, enterokoke in mlečnokislinske bakterije. Povečanje števila mlečnokislinskih bakterij kaže na to, da je fermentacija uspešno potekala, saj so te bakterije ključne za fermentacijo. Njihova rast je vplivala tudi na rast in razmnoževanje plesni in kvasovk. Mlečnokislinske bakterije namreč sintetizirajo bakteriocinom podobne snovi in organske kisline, ki imajo značilne fungistatične in fungicidne lastnosti, s čimer zavirajo njihovo rast, kar je vidno tudi v našem primeru obeh liofiliziranih žuželk.

Enterokoki, ki so rod mlečnokislinskih bakterij, v živilih večinoma predstavljajo fekalno kontaminacijo. V primeru žuželk, je ta kontaminacija verjetno direktna iz njihovega črevesnega trakta. Pri obeh žuželkah se je število enterokokov povečalo, kar kaže, da so bile razmere med fermentacijo ugodne za njihovo rast. To pomeni, da bi morali več pozornosti posvetiti na začetne obdelave žuželk, ker stradanje žuželk in liofilizacija, nista bila dovolj učinkovita postopka.

Preglednica 1: Mlečnokislinske fermentacije in mikrobiološke preiskave hišnih čričkov

Hišni črički	Preiskava	Število mikroorganizmov (log CFU/g)			
		NF	FLp	FMs	SF
Spremljanje mlečnokislinske fermentacije	Mlečnokislinske bakterije	6,58 ± 0,01 ^a	9,12 ± 0,07 ^b	9,40 ± 0,07 ^b	9,30 ± 0,06 ^b
	pH	6,6	6,0	5,9	6,2
Mikrobiološke preiskave	Aerobne mezofilne bakterije	7,00 ± 0,03 ^a	9,06 ± 0,21 ^b	9,43 ± 0,05 ^b	9,32 ± 0,09 ^b
	Anaerobne mezofilne bakterije	6,78 ± 0 ^a	8,85 ± 0,07 ^b	9,60 ± 0,06 ^c	9,08 ± 0,03 ^d
	Aerobne sporogene bakterije	4,46 ± 0,01 ^a	3,79 ± 0,03 ^b	3,59 ± 0,10 ^b	4,83 ± 0,37 ^a
	Enterokoki	6,20 ± 0,06 ^a	7,94 ± 0,09 ^b	7,96 ± 0,06 ^b	8,16 ± 0,04 ^b
	Plesni	3,46 ± 0,09 ^a	< 2 ^b	< 2 ^b	< 2 ^b
	Kvasovke	3,58 ± 0,16 ^a	< 2 ^b	< 2 ^b	< 2 ^b

Legenda: NF: pred fermentacijo; FLp: fermentacija z bakterijami vrste *Lb. plantarum*; FMs fermentacija z mesno startersko kulturo; SF: spontana fermentacija; a, b, c: povprečne vrednosti v posamezni vrstici označene z različno črko, se statistično značilno razlikujejo (p≤0,05)

Preglednica 2 Mlečnokislinske fermentacije in mikrobiološke preiskave ličink mokaarja

Ličinke mokaarja	Preiskava	Število mikroorganizmov (log CFU/g)			
		NF	FLp	FMs	SF
Spremljanje mlečnokislinske fermentacije	Mlečnokislinske bakterije	6,37 ± 0,20 ^a	9,11 ± 0,01 ^b	9,24 ± 0 ^c	9,13 ± 0,01 ^b
	pH	7,0	6,3	6,1	6,5
Mikrobiološke preiskave	Aerobne mezofilne bakterije	7,11 ± 0,03 ^a	9,17 ± 0,03 ^b	9,24 ± 0,03 ^b	9,09 ± 0,42 ^b
	Anaerobne mezofilne bakterije	6,89 ± 0,07 ^a	9,01 ± 0,12 ^b	9,31 ± 0,05 ^c	9,22 ± 0,01 ^d
	Aerobne sporogene bakterije	< 2 ^a	< 2 ^a	< 2 ^a	< 2 ^a
	Enterokoki	5,54 ± 0,15 ^a	8,14 ± 0,06 ^b	7,82 ± 0,05 ^c	8,10 ± 0,06 ^b
	Plesni	2,30 ± 0,43 ^a	< 2 ^b	< 2 ^b	< 2 ^b
	Kvasovke	3,43 ± 0,15 ^a	< 2 ^b	< 2 ^b	< 2 ^b

Legenda: NF: pred fermentacijo; FLp: fermentacija z bakterijami vrste *Lb. plantarum*; FMs fermentacija z mesno startersko kulturo; SF: spontana fermentacija; a, b, c: povprečne vrednosti v posamezni vrstici označene z različno črko, se statistično značilno razlikujejo (p≤0,05)

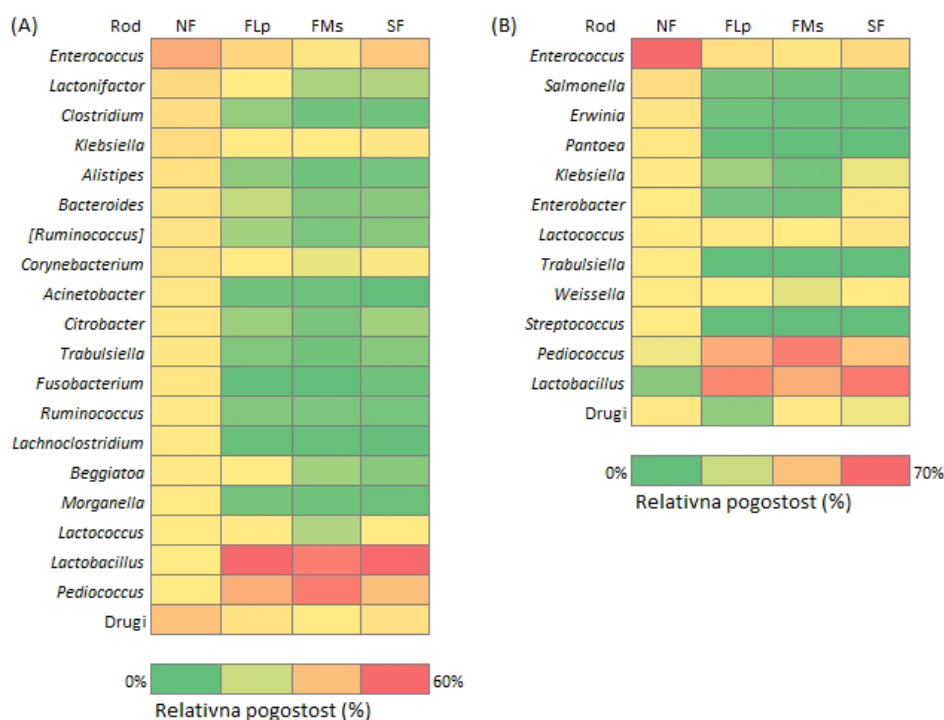
Pri hišnih čričkih so bile prisotne aerobne sporogene bakterije, katerih število se po fermentaciji ni povečalo, oziroma se je, v primeru fermentacije z bakterijami vrste *Lb. plantarum* in z mesno startersko kulturo, celo zmanjšalo. Razmere niso bile ugodne za hitro rast teh mikroorganizmov, na kar je verjetno vplivala mlečnokislinska fermentacija. To bi lahko dokazali z daljšim časom fermentacije, kjer bi videli, ali se začne število sporogenih bakterij s časom dodatno zmanjševati. Na veliko število mikroorganizmov v začetnih vzorcih je verjetno vplivala sama tehnologija obdelave hišnih čričkov in ličink mokaarja, kjer mikroorganizmi niso bili v zadostni meri inhibirani.

4.2 MIKROBIOM ŽUŽELK

V hišnih čričkih smo pred fermentacijo določili 151 rodov bakterij, medtem ko smo po fermentacijah določili 37 (fermentacija z bakterijami vrste *Lb. plantarum*), 42 (fermentacija z mesno startersko kulturo oz. 46 rodov (spontana fermentacija).

Tudi v ličinkah mokaarja je bila raznolikost bakterijskih rodov večja pred fermentacijo, saj smo določili 66 rodov bakterij pred fermentacijo, in 25 (fermentacija z bakterijami vrste *Lb. plantarum*), 20 (fermentacija z mesno startersko kulturo oz. 25 rodov (spontana fermentacija).

Pri obeh vrstah žuželk so pred fermentacijo prevladovali enterokoki (28 % pri hišnih čričkih, 68 % pri ličinkah mokaarja), po fermentacijah pa laktobacili (46-55 % pri hišnih čričkih, 33-53 % pri ličinkah mokaarja) in pediokoki (19-47 % pri hišnih čričkih, 19-57 % pri ličinkah mokaarja) (Slika 1).



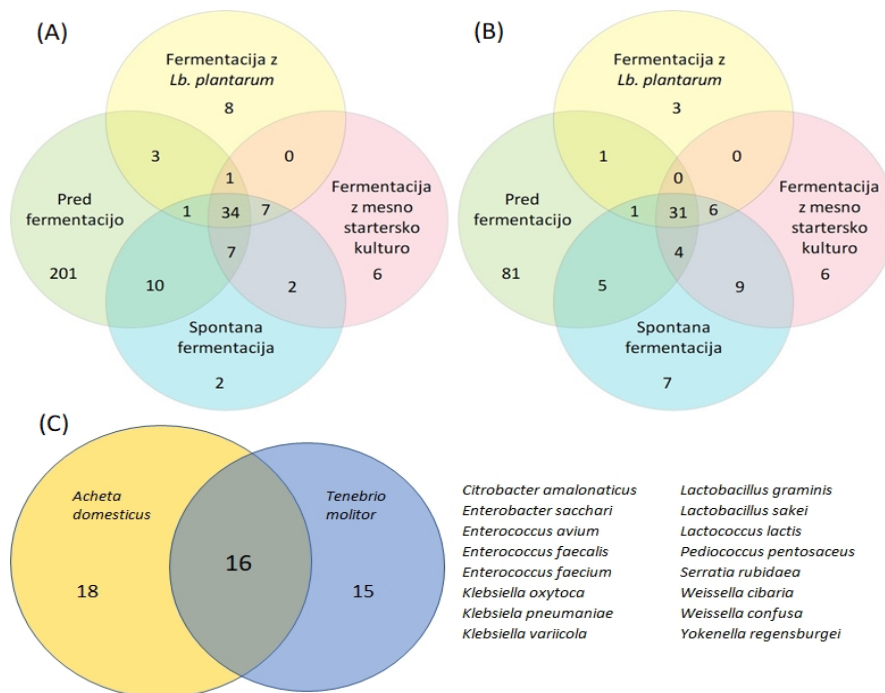
Slika 1: Relativna pogostost bakterijskih rodov v hišnih čričkih (A) in ličinkah mokaarja (B). Prikazani so rodovi, katerih relativna pogostost je $\geq 1\%$ v vsaj enem vzorcu pri posamezni vrsti žuželk.

Legenda: NF: pred fermentacijo; FLp: fermentacija z bakterijami vrste *Lb. plantarum*; FMs fermentacija z mesno startersko kulturo; SF: spontana fermentacija

Bakterije rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*, ki smo jih določili v hišnih čričkih in ličinkah mokaarja sodijo med mlečnokislinske bakterije, ki so pomembne pri fermentaciji hrane (Mokoena, 2017). Te bakterije imajo značilne hidrolitične razgradne aktivnosti kot je npr. razgradnja polisaharidov in beljakovin ter biosintezne aktivnosti kot je tvorba mlečne in drugih kislin, bakteriocinov, vitaminov, različnih sestavin okusa in gama-aminomaslene

kislina. Zato izboljšajo okus in teksturo fermentiranih živilskih izdelkov, povečajo njihovo hranilno vrednost, zmanjšajo nekatere škodljive snovi in podaljšajo rok uporabe (Wang in sod., 2021).

Pri podrobni analizi preko 330 vrst bakterij smo ugotovili, da je bilo 34 vrst določenih v vseh vzorcih hišnih čričkov (Slika 2 (A)) in 31 vrst v vseh vzorcih ličink mokaarja (Slika 2 (B)) pred in po fermentacijah ne glede na vrsto fermentacije. Med temi je bilo 16 vrst skupnih vsem vzorcem ne glede na vrsto žuželk (Slika 2 (C)).



Slika 2: Vennov diagram bakterijskih vrst v vzorcih hišnih čričkov (A), vzorcih ličink mokaarja (B) in vseh vzorcih (C) s 16 vrstami bakterij, ki so bile v vseh vzorcih pred in po fermentacijah.

Predpostavili smo, da se je relativna pogostost bakterijskih vrst, ki so sodelovale pri fermentacijah povečala vsaj 10x glede na začetno relativno pogostost v posameznem vzorcu pred fermentacijo. Izmed 16 vrst bakterij določenih v vseh vzorcih, lahko predvidevamo, da so fermentacijo vodile bakterije vrst *Ped. pentosaceus*, *Lb. graminis*, *Lb. sakei* in *Ent. faecalis* v vzorcih hišnih čričkov ter bakterije vrst *Ped. pentosaceus*, *Lb. graminis*, *Lb. sakei* in *Ent. avium* v vzorcih ličink mokaarja.

Bakterije rodu *Pediococcus* so poznane po svojih fermentacijskih sposobnostih in se pogosto uporabljajo kot starter kulture (Todorov in sod., 2022). Med njimi so bakterije vrst *Ped. acidilactici*, *Ped. pentosaceus* in *Ped. halophilus* najpogostejše izolirani in karakterizirani pediokoki, ki sodelujejo v fermentaciji hrane. Laktobacili so dobro znani pri fermentacijah mlečnih, mesnih in zelenjavnih živil ter tudi kruha iz kislega testa, uporabljajo se tudi kot probiotiki in mnogi imajo status GRAS (splošno priznано kot varno) (Dempsey in Corr, 2022). Bakterije vrst *Lb. graminis* in *Lb. sakei*, identificirane v hišnih čričkih in ličinkah mokaarja, so po Zheng in sod. (2020) poimenovane *Latilactobacillus graminis* in *Latilactobacillus sakei*, vendar sta za namen članka uporabljeni prvi imeni.

Bakterije rodu *Enterococcus* vključujejo patogene, kvarne in komenzalne vrste ter tudi seve, ki sodelujejo pri fermentaciji nekaterih tradicionalnih živil (Hanchi in sod., 2018). Čeprav se prisotnost enterokokov v hrani običajno obravnava kot fekalna kontaminacija, nedavne raziskave kažejo, da imajo nekateri sevi dobre funkcionalne fermentativne lastnosti (*Ent. durans* in *Ent. faecalis* v surovih in fermentiranih mlečnih izdelkih, *Ent. faecium* in *Ent. casseliflavus* v fermentiranih zelenih olivah, *Ent. faecium* in *Ent. mundtii* v fermentiranih morskih sadežih). Enterokoki prispevajo k značilnim senzoričnim lastnostim fermentiranih mesnih izdelkov,

imajo nekatere dobre funkcionalne lastnosti, in se uporabljajo tudi kot zaščitne kulture predvsem zaradi proizvodnje bakteriocinov, ki delujejo protibakterijsko.

5 ZAKLJUČEK

Povečanje števila mlečnokislinskih bakterij in padec pH v fermentiranih vzorcih hišnih čričkov (*A. domesticus*) in ličink mokaarja (*T. molitor*) je bilo v enakem obsegu ne glede na dodatek starterske kulture (bakterije vrste *Lb. plantarum*, mesna starterska kultura). Pri obeh vrstah žuželk se je s fermentacijo povečala populacija aerobnih in anaerobnih bakterij ter enterokokov. Vzorci sicer niso vsebovali patogenov in razmere fermentacije so bile učinkovite pri zaviranju rasti plesni in kvasovk pri obeh vrstah žuželk, in pri zaviranju rasti aerobnih spirogenih bakterij v hišnih čričkih po fermentaciji z bakterijami vrste *Lb. plantarum* in po fermentaciji z mesno startersko kulturo.

Mikrobiom hišnih čričkov se je razlikoval od mikrobioma ličink mokaarja. Glavne bakterije, identificirane v nefermentiranih žuželkah in tudi po različnih fermentacijah, so bile bakterije vrst *Lb. graminis*, *Lb. sakei*, *Ped. pentosaceus* in *Ent. faecalis* v hišnih čričkih in *Ent. avium* v ličinkah mokaarja. Ker so bile te bakterije prisotne že v nefermentiranih žuželkah in v vzorcih, ki so bili spontano fermentirani, lahko domnevamo, da so tudi fermentacije z bakterijami vrst *Lb. plantarum* in fermentacije z mesno startersko kulturo vsaj delno vodile avtohtone žuželčje bakterije.

6 ZAHVALA

Raziskava je potekala v sklopu raziskovalnega dela projekta J7-3155 INPROFF: Kakovost, varnost in pristnost živil in krme na osnovi proteinov žuželk.

7 VIRI

- Aidoo O. F., Osei-Owusu J., Asante K., Dofuor A. K., Boateng B. O., Debrah S. K., Ninsin K. D., Siddiqui S. A., Chia S. Y. 2023. Insects as food and medicine: a sustainable solution for global health and environmental challenges. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1113219. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1113219>
- Caparros Megido R., Desmedt S., Blecker C., Béra F., Haubruge É., Alabi T., Francis F. 2017. Microbiological load of edible insects found in Belgium. *Insects*, 8(1), 12. <https://doi.org/10.3390/insects8010012>
- Dempsey, E. and Corr, S. C. 2022. *Lactobacillus* spp. for gastrointestinal health: Current and future perspectives. *Frontiers in Immunology* 13: 840245. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840245>
- Gałęcki R., Bakula T., Gołaszewski, J. 2023. Foodborne diseases in the edible insect industry in Europe—New challenges and old problems. *Foods*, 12(4), 770. <https://doi.org/10.3390/foods12040770>
- Hanchi H., Mottawea W., Sebei K., Hammami R. 2018. The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns - an update. *Frontiers in Microbiology* 9: 1791. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01791>
- Lange K. W., Nakamura Y. 2023. Potential contribution of edible insects to sustainable consumption and production. *Frontiers in Sustainability*, 4, 1112950. <https://doi.org/10.3389/frsus.2023.1112950>
- Messina C. M., Gaglio R., Morghese M., Tolone M., Arena R., Moschetti G., Santulli A., Francesca N., Settanni L. 2019. Microbiological profile and bioactive properties of insect powders used in food and feed formulations. *Foods*, 8(9), 400. <https://doi.org/10.3390/foods8090400>
- Mokoena M.P. 2017. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 22: 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
- Plateis Z. 2024. Mlečnokislinska fermentacija in mikrobiološka varnost liofiliziranih hišnih čričkov in ličink mokaarja. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 43 str. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=162846>
- Todorov S. D., Daisa C. M., Liong M. Z., Nero L. A., Khosravi-Darani K., Ivanova I. V. 2023. Beneficial features of pediococcus: from starter cultures and inhibitory activities to probiotic benefits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39:4, <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03419-w>
- Uredba (EU) 2015/2283 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 25. novembra 2015 o novih živilih, spremembi Uredbe (EU) št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in Sveta in razveljavitvi Uredbe (ES) št. 258/97 Evropskega parlamenta in Sveta ter Uredbe Komisije (ES) št. 1852/2001. Uradni list Evropske unije, L 327, 11.12.2015, str. 1–22 (31. 3. 2025)

- Van Huis A. 2016. Edible insects are the future? *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 294-305. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000069>
- Vandeweyer D., Crauwels S., Lievens B., Van Campenhout L. 2017. Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Grylloides sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.007>
- Wang Y., Wu J., Lv M., Shao Z., Hungwe M., Wang J., Bai X., Xie J., Wang Y., Geng W. 2021. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9: 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Zapašnik A., Sokołowska B., Bryła M. 2022. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, 11(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
- Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C.M.A.P., Harris H.M.B., Mattarelli P., O'Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanabe K., Wuyts S., Felis G.E., Gänzle M.G., Lebeer S. 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 70: 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

IZZIVI TRAJNOSTNE PRIDELAVE IN PREDELAVE HRANE V SLOVENIJI Z VIZIJO ZA PRIHODNOST

Petra MEDVED DJURAŠINOVIĆ¹

Povzetek: Predavanje obravnava aktualne izzive in priložnosti, s katerimi se sooča slovenska živilskopredelovalna industrija v kontekstu prehoda na trajnostne modele delovanja. V ospredju so okoljski, gospodarski in družbeni vidiki trajnostne pridelave in predelave hrane, ki vključujejo zmanjševanje ogljičnega odtisa, učinkovito rabo naravnih virov, zmanjšanje količine zavržene hrane ter prehod na krožno gospodarstvo. Prispevek izpostavlja pomen lokalne pridelave in predelave, krepitev kratkih in transparentnih dobavnih verig ter večjo samooskrbo kot ključne dejavnike za povečanje odpornosti prehranskega sistema. Poudarjena je tudi vloga inovacij in sodobnih tehnologij, kot so digitalizacija proizvodnih procesov, razvoj alternativnih virov beljakovin ter uvedba pametnih sistemov. Izpostavljena je potreba po tesnejšem sodelovanju med znanstvenoraziskovalnimi institucijami, živilskopredelovalno industrijo, vladnimi organi in potrošniki, saj je le s celostnim pristopom mogoče doseči dolgoročne spremembe. Vizija za prihodnost temelji na razvoju trajnostno naravnane prehranskega sistema, ki bo hkrati konkurenčen, tehnološko napreden in družbeno odgovoren. Poseben poziv je namenjen oblikovanju spodbudnega zakonodajnega in finančnega okvira, ki bo omogočil prehod v bolj zeleno in vključujočo prihodnost. Prispevek tako ponuja celovit vpogled v kompleksnost izzivov in hkrati vizijo za trajnostno preobrazbo agroživilskega sektorja v Sloveniji.

Ključne besede: trajnost, pridelava in predelava hrane, prehranski sistem

CHALLENGES OF SUSTAINABLE PRIMARY PRODUCTION AND FOOD PROCESSING IN SLOVENIA WITH A VISION FOR THE FUTURE

Abstract: The lecture addresses the current challenges and opportunities faced by the Slovenian primary production and food processing industry in the context of transitioning to sustainable operational models. It focuses on the environmental, economic, and social aspects of sustainable food processing, including the reduction of carbon footprint, efficient use of natural resources, minimization of food waste, and the shift towards a circular economy. The contribution highlights the importance of local food production and processing, the strengthening of short and transparent supply chains, and increased self-sufficiency as key factors in enhancing the resilience of the food system. The role of innovation and modern technologies is also emphasized, such as the digitalization of production processes, the development of alternative protein sources, and the implementation of smart systems. The need for closer collaboration between research institutions, the food processing industry, governmental bodies, and consumers is underlined, as only a holistic approach can lead to long-term change. The vision for the future is based on the development of a sustainable food system that is competitive, technologically advanced, and socially responsible. A special call is made for the creation of a supportive legislative and financial framework that will enable the transition to a greener and more inclusive future. The contribution thus offers a comprehensive insight into the complexity of the challenges and simultaneously presents a vision for the sustainable transformation of the agri-food sector in Slovenia.

Keywords: sustainability, primary production and food processing, food system

¹ dr., GZS-Zbornica kmetijskih in živilskih podjetij, Dimičeva ulica 13, Ljubljana, e-mail: petra.medved@gzs.si

PREDSTAVITEV MAGISTRSKIH NALOG

PREHRANSKE IN FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI IZBRANEGA PECIVA Z DODATKOM SPIRULINE

Pina ARNŠEK¹ in Mateja LUŠNIC POLAK²

Povzetek: V okviru magistrske naloge smo preučevali vpliv dodatka spiruline na fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti brownijev. Spirulina je bogata z beljakovinami, vitamini, minerali in esencialnimi maščobnimi kislinami, zaradi česar velja za izjemno hranilno in dragoceno sestavino. V našem eksperimentu smo del pšenične moke nadomestili s spirulino v deležih 5, 7, 10 in 15 %, glede na skupno količino moke. Rezultati so pokazali, da dodatek spiruline vpliva na povečanje vsebnosti beljakovin in mineralov v brownijih ter zmanjšanje vsebnosti ogljikovih hidratov. Zamenjava moke s spirulino ni pokazala pomembnih razlik v vsebnosti vode, maščob in energijski vrednosti. Browniji s 5 % zamenjavo moke s spirulino so bili najbolj primerljivi kontrolnim vzorcem, kar kaže na dobro senzorično kakovost. Pri višjih deležih zamenjave moke s spirulino, zlasti pri 15 % zamenjavi, so bili browniji bolj mokri, z intenzivnejšo aromo in temnejšo, zelenkasto barvo. Dodatek spiruline je vplival tudi na maščobnokislinsko sestavo, pri čemer se je nakazal trend izboljšanja razmerja med *n*-3 in *n*-6 maščobnimi kislinami.

Ključne besede: pecivo, brownie, spirulina, fizikalno-kemijske lastnosti, hranilna vrednost

NUTRITIONAL AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SELECTED PASTRIES WITH SPIRULINA

Abstract: In our master's thesis, we investigated the impact of adding spirulina on the physicochemical and sensory properties of brownies. Spirulina is rich in proteins, vitamins, minerals, and essential fatty acids, making it an exceptionally nutritious and valuable ingredient. In our experiment, we replaced a proportion of wheat flour with spirulina in amounts of 5, 7, 10, and 15%, based on the total amount of flour. The results showed that the addition of spirulina increased the protein and mineral content in the brownies and decreased the carbohydrate content. The substitution of flour with spirulina did not show significant differences in water content, fat content, or energy value. Brownies with a 5% substitution of flour with spirulina were the most comparable to the control samples, indicating also good sensory quality. At higher levels of flour substitution with spirulina, particularly at 15%, the brownies became moister with a more intense flavour and a darker, greenish colour. The addition of spirulina also affected the fatty acid composition, indicating a trend toward improving the ratio between *n*-3 and *n*-6 fatty acids.

Keywords: pastries, brownie, spirulina, physicochemical properties, nutritional value

¹ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, pina.arnsek@gmail.com

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

1 UVOD

Spirulina je modro-zelena cianobakterija, ki je v zadnjem obdobju vedno bolj razširjena v živilski, zdravstveni, kozmetični industriji ter v ribogojstvu (Pop, 2022; Soni in sod., 2017). Trg zahteva nenehno prilagajanje ponudbe izdelkov potrebam in pričakovanjem potrošnikov. Kakovost, videz in sestavine so glavni kriteriji, ki jih potrošniki, poleg cene, upoštevajo pri izbiri določenega živila. V tržnem prostoru piškotov obstajajo določeni trendi, kot so povpraševanje po izdelkih s povečano hranilno vrednostjo ter usmerjenost v bolj zdrave izdelke. Inovativnost je prednost za vstop na nove trge, hkrati pa tudi hiter odziv na zahteve potrošnikov, ki iščejo bolj izpopolnjene izdelke (Pop, 2022). Spirulina ima zelo veliko vsebnost makro in mikrohranil, esencialnih aminokislin, beljakovin, maščob, vitaminov, mineralov in antioksidantov. Med vitamini je potrebno izpostaviti predvsem vitamine skupine B, ki jih najdemo predvsem v živilih živalskega izvora in predstavljajo glavno prehransko skrb pri vegetarijancih in veganih. Spirulina je lahko prebavljiva in ima prebiotične lastnosti. Stimulativno vpliva na človeški imunski sistem ter ima antioksidativne in antibakterijske lastnosti (Pop, 2022; Soni in sod., 2017). Biomasa spiruline se tako uporablja v prehrani v obliki suhega prahu, sirupov in tablet. Spirulino se dodaja različnim živilom, kot so kruh, pecivo in piškoti, z namenom izboljšanja hranilne vrednosti (Pop, 2022).

Browniji so priljubljena sladica, znana po svoji bogati čokoladni teksturi. Prav zaradi njihove priljubljenosti med potrošniki se vedno pogosteje iščejo načini, kako izboljšati njihovo prehransko vrednost, ne da bi pri tem poslabšali njihov okus. Ena od možnosti za doseg tega cilja je dodatek spiruline, ki je znana po svoji izjemni hranilni vrednosti.

Namen raziskave je bil preučiti fizikalno-kemijske lastnosti brownijev z dodatkom spiruline ter ugotoviti, kako omenjeni dodatek vpliva na fizikalno-kemijske lastnosti, teksturne lastnosti, prehransko vrednost, maščobnokislinsko sestavo in senzorično sprejemljivost končnega izdelka.

2 MATERIAL IN METODE

Pripravili smo pet skupin brownijev: štiri z dodatkom spiruline v prahu v različnih koncentracijah in kontrolni vzorec. Poskus smo izvedli v treh neodvisnih ponovitvah. Osnovna receptura za pripravo brownijev je bila naslednja: 60 g moke, 83 g masla, 83 g čokolade, 83 g sladkorja, 3 g vanilin sladkorja, 17 g kakava v prahu in 110 g jajčnega melanža ter 7 g masla za peko. Kontrolna skupina (K) je bila v celoti iz pšenične moke, v ostalih skupinah pa je bil del pšenične moke nadomeščen z določenim deležem spiruline v prahu (5, 7, 10 oz. 15 %; S5, S7, S10 in S15). Postopek priprave: v kozici smo stopili maslo in jedilno čokolado, da je nastala gladka zmes in jo ohladili. V posodi kuhinjskega romota (MUM 5, Bosch, Nemčija) smo zmešali rjavi sladkor, vaniljev sladkor, kakav v prahu in moko/spirulino. Mešanici smo dodali čokoladno zmes in predhodno stepena jajca, ki smo jo stepali do enotne in gladke mase. Pekač premera 20 cm smo namazali z maslom in vanj vlili maso. Brownije smo pekli 15 minut v pečici (BO6SA2T2-42, Asko, Slovenija) pri temperaturi zraka 190 °C.

Na vzorcih petih eksperimentalnih skupin (5×3 proizvodne ponovitve) smo opravili naslednje analize: določanje vsebnost vode, beljakovin, maščobe in mineralov (AOAC, 1999) ter maščobnokislinske sestave (prirejena metoda Kaluznya in sod., 1985), merjenje teksturnih lastnosti mase (povratna ekstruzija), merjenje teksturnih lastnosti pečenega izdelka z metodo TPA (ang. Texture Profile Analysis) (Texture Analyzer TA-XT Plus (Stable Micro Systems LTD, VB), merjenje barvnih vrednosti (L^* , a^* in b^*) (Minolta CR-200b (Konica Minolta, Japonska), specifičnega volumna (Kowalska in sod., 2021), hidratacijskih lastnosti (Lee in Inglett, 2006) in izvedli senzorično vrednotenje intenzivnosti zelenega odtenka, intenzivnost dodatka v vonju, intenzivnosti dodatka v aromi in teksturo. Rezultati so bili statistično obdelani z ANOVO in Duncanovim testom (SPSS, verzija 22.0, SPSS Inc., Chicago, ZDA).

3 REZULTATI

Dodatek spiruline vpliva na hranilno vrednost brownijev (preglednica 1). Vsebnosti beljakovin in pepela sta se z večanjem koncentracije spiruline povečevala, v primeru ostalih hranil nismo opazili sprememb. Dodatek spiruline je povečal vsebnost beljakovin tudi v raziskavah na piškotih (Egea in sod., 2014; Batista in sod., 2017), vsebnost

mineralov pa v suflējih (Ali in sod., 2019). Dodatek spiruline je vplival tudi na maščobnokislinsko sestavo brownijev. Z naraščanjem deleža spiruline smo opazili trend naraščanja vsebnosti nasičenih (NMK), enkrat nenasičenih (ENMK) in večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK). Največje vsebnosti NMK, ENMK in VNMK smo določili v vzorcu S15, predvsem na račun palmitinske, stearinske, miristinske, oleinske in linolne kisline, kar je v skladu z ugotovitvami Zlateve in sod. (2022) v študiji na kruhu. Dodatek spiruline v brownijih je pokazal rahel trend izboljšanja razmerja med *n*-3 in *n*-6 maščobnimi kislinami, vendar zaradi premajhnega števila ponovitev ne moremo z gotovostjo trditi, da je spirulina dejansko vplivala na to spremembo.

Preglednica 1: Vpliv delne zamenjave pšenične moke s spirulino v prahu v brownijih na njihove prehranske in fizikalno-kemijske parametre ter senzorične lastnosti

Vzorec/parameter	K	S5	S7	S10	S15
vsebnost hranil					
voda (g/100 g)	18,60±0,79	18,99±0,65	19,30±0,40	19,40±0,15	18,58±0,23
maščoba (g/100 g)	27,90±0,77	27,26±1,18	28,52±1,66	27,12±1,44	28,24±2,28
beljakovine (g/100 g)	7,63±0,06 ^c	7,87±0,24 ^c	8,13±0,23 ^b	8,32±0,09 ^b	8,88±0,14 ^a
pepel (g/100 g)	1,01±0,01 ^d	1,10±0,01 ^c	1,13±0,00 ^{bc}	1,15±0,03 ^b	1,22±0,01 ^a
skupni OH (g/100 g)	44,78±1,04	44,59±1,55	43,50±1,81	43,66±0,79	43,08±2,24
maščobnokislinska sestava					
NMK (mg MK/g)	95,93±2,56	111,56±4,25	110,10±4,23	110,11±3,98	123,84±6,21
ENMK (mg MK/g)	44,24±1,42	50,93±2,03	50,99±2,86	50,91±1,87	57,10±2,93
VNMK (mg MK/g)	7,39±2,42	8,28±2,57	7,56±1,97	8,02±2,03	9,42±2,14
skupne MK	148,11±7,70	171,37±6,33	169,31±8,75	169,74±5,23	191,23±7,89
<i>n</i> -3 (mg MK/g)	0,72±0,05	0,71±0,03	0,81±0,12	1,00±0,01	1,19±0,02
<i>n</i> -6 (mg MK/g)	7,23±1,45	8,17±1,98	7,41±1,85	7,73±1,63	9,09±2,05
fizikalne lastnosti					
specifični volumen (cm ³ /g)	0,97± 0,00 ^d	0,98± 0,00 ^c	10,00± 0,00 ^b	1,15± 0,00 ^a	1,15± 0,00 ^a
indeks absorpcije (%)	1,62 ± 0,07 ^b	1,79 ± 0,28 ^b	1,76 ± 0,37 ^b	1,55 ± 0,19 ^b	2,27 ± 0,26 ^a
vrednost <i>L</i> *	32,64± 1,15 ^a	32,16± 1,27 ^a	30,46± 0,55 ^b	30,06± 1,09 ^{bc}	29,52± 1,06 ^c
vrednost <i>a</i> *	10,07± 0,62 ^a	5,45± 0,35 ^b	4,19± 0,48 ^c	2,90± 0,13 ^d	1,87± 0,20 ^c
vrednost <i>b</i> *	11,70± 0,90 ^a	9,70± 0,78 ^b	8,59± 0,83 ^c	7,28± 0,66 ^d	6,78± 0,50 ^d
teksturni parametri					
čvrstost mase (N)	23,62± 10,59	24,36± 8,74	27,44± 1,43	24,70± 11,62	38,39± 13,28
konsistenca mase (Ns)	190,0± 76,59	211,04± 95,36	219,02± 58,51	237,29± 34,32	265,13± 41,50
kohezivnost mase (N)	-30,84± 10,19	-42,70± 7,09	-30,86± 1,73	-29,68± 10,41	-40,16± 8,39
indeks viskoznosti mase (Ns)	-40,12± 16,12	-44,86± 21,44	-45,91± 9,02	-32,94± 24,35	-50,44± 5,34
trdota (N)	32,98± 6,19 ^a	29,60± 6,65 ^{ab}	25,27± 4,95 ^{bc}	27,04± 2,93 ^{bc}	24,34± 7,49 ^c
prožnost	0,50± 0,04	0,52± 0,05	0,51± 0,07	0,50± 0,07	0,48± 0,14
kohezivnost	0,23± 0,02	0,23± 0,02	0,24± 0,04	0,24± 0,03	0,25± 0,06
gumijavost (N)	7,60± 2,12	6,86± 1,68	6,04± 1,16	6,59± 0,95	6,38± 3,19
žvečljivost (N)	3,85± 1,33	3,59± 1,10	3,11± 0,91	3,32± 0,81	3,42± 2,30
elastičnost	0,07± 0,01	0,07± 0,01	0,07± 0,01	0,07± 0,01	0,07± 0,02
senzorične lastnosti					
zelen odtenek (1-7)	1,0±0,00	1,9±0,31	2,8±0,51	4,8±	6,7±0,32
vonj po spirulini (1-7)	1,0±0,00	1,0±0,00	1,2±0,12	1,5±0,32	1,8±0,42
aroma po spirulini (1-7)	1,0±0,00	1,3±0,35	1,7±0,42	2,1±0,45	2,8±0,36
tekstura (1-4-7)	4,0±0,00	4,5±0,71	4,1±0,62	3,9±0,53	4,6±0,41

Rezultati so podani kot povprečna vrednost ± standardni odklon. Legenda: K - kontrola, S5 - 5 % zamenjava pšenične moke s spirulino v prahu, S7 - 7 % zamenjava pšenične moke s spirulino v prahu, S10 - 10 % zamenjava pšenične moke s spirulino v prahu, S15 - 15 % zamenjava pšenične moke s spirulino v prahu, OH - ogljikovi hidrati; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj parametra in vrstice (a-d) se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$, razlike med eksperimentalnimi skupinami)

Specifični volumen brownijev se je povečeval z naraščanjem dodatka spiruline, prav tako je naraščal tudi indeks absorpcije vode, razen pri vzorcu S10. Lucas in sod., (2018) so v prigrizkih del riževe in koruzne moke nadomestili z 2,6 % spiruline, vendar ta zamenjava ni značilno vplivala na indeks absorpcije v primerjavi z kontrolnim prigrizkom.

Najtemnejšo barvo so imeli browniji z največjim, 15 % dodatkom spiruline. Z večanjem dodatka se je parameter b^* premaknil v negativne vrednosti, kar pomeni zmanjšanje rumenega odtenka. Prav tako se je manjšala tudi vrednost a^* , kar odraža večjo prisotnost zelenega odtenka. Do podobnih ugotovitev na testeninah so prišli tudi Raczky in sod. (2022) ter Batista in sod. (2017). Obogatitve testenin ali kruha z nekaterimi rastlinskimi materiali lahko pomembno vplivajo na barvo končnega izdelka. Sprememba barve pogosto ni sprejemljiva za potrošnika, kar lahko vodi v zavračanje izdelka, kljub temu da ima izboljšano hranilno sestavo (Dziki, 2021).

Meritve povratne ekstruzije na masi za brownije v nobenem od izmerjenih parametrov niso pokazale značilnih razlik med posameznimi skupinami brownijev. Pač pa je dodatek spiruline vplival na instrumentalno izmerjeno trdoto brownijev, ta se je z večanjem dodatka spiruline zmanjševala. Spirulina lahko vpliva na tvorbo glutenske mreže, kar lahko pripišemo prisotni vlaknini, ki preprečuje sproščanje vode in reakcije z molekulami škroba (Yilmaz in sod., 2022).

Rezultati senzorične analize so pokazali, da se browniji s 5 % zamenjavo pšenične moke s spirulino od kontrole niso bistveno razlikovali, medtem ko je pri brownijih z največjim dodatkom spiruline izstopala intenzivna zelena barva. Prav tako sta bila najvišje ocenjena parametra intenzivnost dodatka v vonju ter intenzivnost dodatka v aromi. Tekstura brownijev z dodatkom spiruline pa je bila bolj mokra, lepljiva in zbita v primerjavi s kontrolo, ki je imela kompaktnjšo sredico. Browniji s 5 % dodatkom spiruline se po senzoričnih lastnostih niso bistveno razlikovali od kontrolnih brownijev, kar pomeni, da je takšen delež zamenjave pšenične moke s spirulino v končnem izdelku sprejemljiv, v primeru višjih dodatkov pa je bila sprejemljivost končnega izdelka slabša.

4 ZAKLJUČEK

Raziskava je pokazala, da dodatek spiruline pomembno vpliva na hranilne in teksturne lastnosti brownijev. Povečala se je vsebnost beljakovin in pepela, pri čemer so bile razlike v vsebnosti vode, maščobe in ogljikovih hidratov manj izrazite. Dodatek spiruline je vplival tudi na maščobnokislinsko sestavo, nakazal se je trend izboljšanja razmerja med $n-3$ in $n-6$ maščobnimi kislinami. Instrumentalne in senzorične analize so pokazale, da spirulina vpliva na barvo, teksturo in aromo brownijev – večji dodatek je povzročil intenzivnejši zeleni odtenek ter mehkejšo, bolj lepljivo teksturo. Rezultati nakazujejo, da je spirulina lahko učinkovita funkcionalna sestavina za izboljšanje prehranske vrednosti brownijev, vendar je pri njenem dodatku treba upoštevati tudi vpliv na senzorične lastnosti izdelka.

5 VIRI

- Ali H. 2022. Nutritional value, amino acids of biscuits and cakes fortified with spirulina (*Arthrospira platensis*) powder. *Journal of Home Economics*, 23, 4: 141-158.
- Ali V., Majumder S., Kishor K., David J. 2019. Study of the different levels of physicochemical and microbial spirulina (*Arthrospira platensis*) on quality of soufflé. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 4, 4: 111-116.
- Batista A., Nunes M., Raymundo A., Gouveia L., Sousa I., Cordobes F. 2010. Microalgae biomass interaction in biopolymer gelled systems. *Food Hydrocolloid*, 25, 4: 817-825.
- Dziki D. 2021. Current trends in enrichment of wheat pasta: Quality, nutritional value and antioxidant properties. *Processes*, 9, 8: 1280. <https://doi.org/10.3390/pr9081280>
- Egea B. C. B., Campos A. L. M., De Carvalho-Elia J. C. M., Danesi D. G. 2014. Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibre. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53, 2: 171-179
- Lucas B. F., de Moraes M. G., Santos T. D., Costa J. A. V. 2018. Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *LWT*, 90: 270-276.
- Pop F. 2022. Improvement of the nutritional value of biscuits by the addition of spirulina powder and consumer acceptance. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 28, 1: 83-88.
- Raczky M., Polanowska K., Kruszewski B., Grygier A., Michałowska D. 2022. Effect of spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation on physical and chemical properties of semolina (*Triticum durum*) based fresh pasta. *Molecules*, 27, 2: 355. <https://doi.org/10.3390/molecules27020355>

- Sonam K., Neetu S. 2017. A comparative study on nutritional profile of spirulina cookies. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2, 3: 100-102
- Soni R. A., Sudhakar K., Rana R. S. 2017. Spirulina–From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 157-171.
- Yilmaz M., Yücepepe A. 2022. Investigation of changes in antioxidant activity and protein digestibility of wheat breads including spirulina platensis and protein extracts from spirulina platensis during in vitro digestion. *Gıda*, 47, 5: 776-789

OBOGATITEV JOGURTA S PLODOVI RASTLINE HOTTENTOT-FIG (*CARPOBROTUS EDULIS* L.)

Andreja ČANŽEK MAJHENIČ¹ in Kim BRATKIČ²

Povzetek: Aditivi za živila so v živilski industriji ključnega pomena za zagotavljanje daljšega roka trajanja živil, s čimer omogočajo njihovo masovno proizvodnjo ter širjenje na nove trge. Toda vnos sintetičnih aditivov v živila je povezan z večjo pojavnostjo zdravstvenih težav, vključno s pojavom alergij in rakavih obolenj. Potrošniki postajajo dandanes vse bolj ozavešeni o zdravih prehranskih navadah. To se kaže v povečani uporabi t. i. funkcionalnih živil, ki poleg svojih osnovnih prehranskih funkcij izkazujejo dodatne, zdravju pozitivne učinke. Eno takih, potencialno funkcionalnih živil, smo raziskovali v naši nalogi, kjer smo kot osnovno živilo uporabili jogurt in ga obogatili z izvlečki rastline *Carpobrotus edulis*. Slednja je slanuša ali halofit, ki je razvila različne prilagoditve na okoljske obremenitve, kot so visoke ravni slanosti. To je prva študija o dodatku izvlečka olupkov Hottentot-fig v jogurt in kaže obetavne rezultate. V času shranjevanja so jogurti z dodatkom izvlečka izkazovali znatno večjo antioksidativno aktivnost kot kontrolni vzorci brez izvlečkov. Dodatek izvlečkov Hottentot-fig v jogurte bi tako lahko predstavljal prehranski vir bioaktivnih fenolnih spojin. Izkazalo se je tudi, da so izvlečki nestrupeni in niso negativno vplivali na kakovostne parametre, kot sta sinereza in sposobnost zadrževanja vode, temveč so jih morda celo izboljšali. Interakcije polifenolov z beljakovinami jogurta bi namreč lahko stabilizirale matriks jogurta. Dodatek izvlečkov ni vplival na fizikalno-kemijske lastnosti (pH in barvo) jogurtov, povzročil pa je rahlo spremembo hranilne sestave, med drugim povečanje vsebnosti pepela v obogatenih jogurtih.

Ključne besede: *Carpobrotus edulis*, bioaktivnost, halofilne rastline, fenolne spojine, jogurt, funkcionalna živila, fizikalno-kemijske lastnosti, hranilna sestava

FORTIFICATION OF YOGURT WITH FRUITS OF HOTTENTOT-FIG (*CARPOBROTUS EDULIS* L.)

Abstract: Food additives are crucial in the food industry to ensure a longer shelf-life of food products, enable its mass production, widespread distribution, and expansion to new markets. But the intake of synthetic food additives is linked with a higher incidence of several health problems, including allergies and cancer. Additionally, consumers are determined in pursuing healthier habits by the use of foods promoting positive effects on health in addition to their basic nutritional purposes, i.e., functional foods. Salt-tolerant plants, i.e., halophytes, such as *Carpobrotus edulis* have evolved several adaptations in response to different stresses, such as high salinity levels, including the synthesis of highly bioactive compounds, such as phenolics. This is the first study done on the addition of Hottentot-fig extract as an additive into yogurts, and it shows promising results. The incorporation of Hottentot-fig extract into the dairy matrix showed a significantly higher antioxidant activity than the control sample at all storage times and can be considered as a source of phenolics. Moreover, the extracts showed to be nontoxic. Overall, the addition of extracts also did not negatively affect quality parameters such as syneresis and water holding capacity and possibly even improve the quality of yogurt, with phenolics interacting with yogurt proteins and stabilizing the gel matrix. In terms of physicochemical properties (pH and color) were not affected by the addition of the Hottentot-fig extracts. While the addition of the Hottentot-fig extracts caused a slight change in nutritional properties, such as increased ash content.

Keywords: *Carpobrotus edulis*, bioactivity, halophyte plants, phenolics, yogurt, functional foods, physicochemical properties, nutritional properties

¹ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Domžale, e-mail: andreja.canzek@bf.uni-lj.si

¹ mag. inž. živil., Ferrero, Irska, e-mail: kim.bratkic@gmail.com

1 INTRODUCTION

The importance of food safety and quality is nowadays increasing and consumers are demanding innovative, healthier, long-lasting products, and products free of synthetic additives. When trying to fortify a food product, many food companies resort to the addition of vitamins and minerals (Bonner in sod., 1999), but the use of bioactive natural products (phenolics or natural extracts), is not common. The combination of such bioactive compounds with food products could be important to obtain functional foods, which maintain good health status and prevent different pathologies (cancer). *Carpobrotus edulis* (L.) commonly known as Hottentot-fig, is a halophyte plant capable of enduring high concentrations of salts and therefore growing in coastal habitats (Hartmann, 2017). In Portugal, it is known as an invasive plant after being introduced to the sand dunes to stabilize them (Campoy in sod., 2018). Hottentot-fig leaves, stems, and fruits (especially fruit peels) contain several bioactive compounds (phenolic acids, flavonoids), and display relevant biological activities (antioxidant, neuroprotective) (Rocha in sod., 2017; Akinyede in sod., 2020; Castañeda-Loaiza in sod., 2020). Phenolics are secondary metabolites produced by plants as defense mechanisms (against microbial attacks, stress, to adapt to environmental conditions), etc. (Bravo, 1998). These compounds have been an object of interest because of their multiple biological properties (antioxidant, anti-inflammatory, antimutagen, and anti-clotting) (Panche in sod., 2016). As phenolics are largely found in plants, the addition of their extracts could be used as a potential food additive to functionalize food products and to introduce such compounds into the daily diets of consumers (Hashemi Gahrue in sod., 2015). Yogurt is one of the most consumed foods and its fortification could represent a good alternative to introduce nutritional and bioactive components into the human diet. To our best knowledge, there are no reports of the possible use of Hottentot-fig as a source of bioactive additives to functionalize food products, such as yogurt.

The objective of this work was to prepare yogurts fortified with extracts from Hottentot-fig fruit peels, which were first appraised for *in vitro* antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents. Fortified yogurts were analyzed for nutritional properties (moisture, ash, minerals), and physicochemical assets (pH, syneresis - S, water holding capacity - WHC), at day 0 ($t = 0$) and at day 7 ($t = 7$) of storage at 4°C. By measuring these parameters and properties of yogurts we determined if extracts from Hottentot-fig fruit peels could be used as a food additive, act as a natural preservative, and obtain functional yogurts with improved chemical and antioxidant properties.

In the research part of this thesis, we establish the next hypothesis: H1 and H2 suggested that the addition of the extracts to yogurt will not negatively affect the **nutritional** and **physicochemical** properties of the obtained product, while H3 suggested that the addition of the extracts to yogurt will increase its **antioxidant** activity.

2 LITERATURE REVIEW

2.1 ANTIOXIDANTS

They are important compounds in food systems, plants, and the human body as they play a vital role in reducing oxidative and harmful processes of free radicals (FR), including reactive oxygen species (ROS) (Nimse and Pal, 2015). The body has mechanisms to cope with excessive FR, but when the imbalance occurs, oxidative stress takes place, which is considered the cause of several humans diseases, such as neurodegeneration (Parkinson's disease, Alzheimer's disease) (Smith in sod., 2000), atherosclerosis (Singh and Jialal, 2006), and cancer (Kinnula and Crapo, 2004). An antioxidant directly scavenges ROS, or other FR, or indirectly inhibits the production of FRs production. Therefore, antioxidants are useful in the food and pharmaceutical industry to increase the shelf life of food or drugs, by protecting them from the process of lipid peroxidation. Because of their ability to prolong shelf life with no adverse effect on the sensory or nutritional properties of food they have become an indispensable group of food additives (Gulcin, 2020).

2.2 PHENOLICS

Phenolics (phenolic acids, flavonoids) are a class of plant's secondary metabolites found mainly in fruits, vegetables, seeds, cereals, wine, tea, herbs, and spices (Boskou, 2006; Lourenço in sod., 2019). They are commonly involved in defense against UV radiation, and pathogens, can play a role as signaling agents between

plant-animal and/or plant-microorganism (MO) relationships. Phenolics are typically soluble in polar organic compounds (e.g. ethanol, methanol), with a couple of exceptions, whereby the water solubility of phenolics increases with the increasing number of hydroxyl groups present (Belščak-Cvitanović in sod., 2018). Phenolics are a large group of molecules and can be segmented into at least 10 different classes.

Although evidence of the *in vitro* antioxidant activity potential of phenolics exists, in general still not much is known about their *in vivo* activities, how they work and about their efficiency (Pietta, 2000).

2.3 HOTTENTOT-FIG

The plant has yellow and pink flowers (Fig. 1) with the ability to develop an extensive root system. The fruits of Hottentot-fig are fleshy berries, with the seeds embedded in pulp. The fruits are used as a food, often sold as a dry product or as jams, or used locally in a fresh form (Eggli and Hartmann 2003). Table 1 presents the nutritional composition of Hottentot-fig.



Figure 1: Detail of a Hottentot-fig flower

(photo: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1200427-2>)

Table 1: Proximate chemical composition and energy value of Hottentot-fig fruits and leaves.

Part of the plant	Fruits	Leaves
Energy	1370 kJ/100 g dry weight	-
Moisture (g/100 g)	77.6 ± 2.2 (WW)	92.3 ± 1.10 (WW)
Protein (g/100 g)	4.67 ± 0.22 (DW)	4.55 ± 0.11 (DW)
Fat (g/100 g)	1.83 ± 0.66 (DW)	1.90 ± 0.16 (DW)
Carbohydrate (g/100 g)	70.2 ± 1.6 (DW)	61.38 ± 0.99 (DW)
Fiber (g/100 g)	-	40.3 (DW)
Ash (g/100 g)	10.1 ± 0.2 (DW)	21.4 ± 0.30 (DW)
References	Broomhead in sod., (2020) Neves et. al. (2021)	Rocha in sod., (2017) Neves et. al. (2021)

Moisture (g/100 g of wet weight, WW), nutrients (g/100 g of dry weight, DW)

Most of the phenolics, flavonoids, coumarins, and tannins in the fruit are found in the fruit peel, which also displays the highest antioxidant activity (Castañeda-Loaiza in sod., 2020). Moreover, the plant of Hottentot-fig is also proven to have antiproliferative activity against the human colon cancer cell line (HCT116) (Hafsa in sod., 2016) as well as antibacterial activity (van der Watt and Pretorius, 2001), including against *Candida albicans* and *C. krusei* (Omoruyi in sod., 2014). Therefore, extract of peels and pulp of Hottentot-fig plants were prepared by using three solvents; ethanol (100%), water (100%), and hydroethanolic extracts (50:50).

2.4 YOGURT

Yogurt is obtained by lactic acid fermentation of milk. To induce this process specific yogurt culture, composed of *Streptococcus* (*S.*) *thermophilus* and *Lactobacillus* (*L.*) *delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, was used. Bacteria live in a strong symbiosis, where *S. thermophilus* starts the fermentation and forms conditions, favourable for the growth of *L. bulgaricus*. The latter degrades milk protein to short peptides and amino acids that again promotes the growth of *S. thermophilus*, and they simultaneously finish the fermentation process. Around 1/3 of lactose is transformed into lactic acid, which decreases the pH of the milk to the isoelectric point of casein (pH 4.6) and coagulation of milk into a gel occurs (Nagaoka, 2019).

To increase its functionalization, there have been studies on the incorporation of bioactive ingredients in yogurts such as olive pomace (Ribeiro in sod., 2021), acidified ethanol extracts of grapes and grape calluses (Karaaslan in sod., 2011), and cinnamon powder (Helal and Tagliazucchi, 2018), which increased the total phenolic content and antioxidant activity of the yogurts. Therefore, we tested the impact of added Hottentot-fig plant extracts to the nutritional profile, external appearance, or pH of yogurts, making them beneficial for the consumer (Caleja in sod., 2016)

3 MATERIAL AND METHODS

All is in detail described in MSc thesis of Bratkič (2022). Figure 2 shows preparation of Hottentot-fig plant peels extracts.



Figure 2: Extract after overnight (16 h) extraction. (Photo: personal archive). From left to right: ethanol, hydroethanolic and water extracts of Hottentot-fig plant peels.

4 RESULTS WITH DISCUSSION

First, the total polyphenol and flavonoids contents of the extracts were determined to select the part of the plant (fruit pulp or fruit peel) to be used to functionalize/fortify the yogurts. The fruit peel extracts had the highest content of total phenols and flavonoids (Castañeda-Loaiza in sod., 2020), and were further evaluated for antioxidant properties, by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) methods (Gulcin, 2020). The extracts were most effective in scavenging ABTS radicals (Gulcin 2020; Lee in sod., 2015; Martysiak-Zurowska and Wenta 2012), and the ethanol extracts had the highest radical scavenging properties in both assays, followed by the hydroethanolic and the water extracts. The results obtained in the assay where the highest IC_{50} was achieved (DPPH), were selected and used to calculate the amount of extract to be used in the functionalization/fortification assays, corresponding to the double of the IC_{50} value (Bratkič, 2022).

Next, yogurts were fortified with the extracts that were added directly into the milk prior to culture inoculation and fermentation. Produced fortified yogurts, and control samples, were analyzed at $t = 0$ (after preparation and stabilization overnight at $4^{\circ}C$), and at $t = 7$ (stored at $4^{\circ}C$). For the determination of nutritional, antioxidant and *in vitro* cytotoxic properties at both storage times, freeze dried biomass of yogurts was used. While for physicochemical properties fresh samples were used (Bratkič, 2022).

Regarding radical scavenging activity (RSA) of the fortified yogurts, ethanol extracts were prepared from freeze dried yogurts. The results revealed that fortified yogurt with the ethanol and water extracts had significantly higher antioxidant activity, when compared with the control samples, at $t = 0$ and $t = 7$. A decline in the RSA of extract fortified yogurts compared to the initial extracts was noticed as well (Bratkič, 2022).

The cytotoxicity of the extracts and extract fortified yogurts was also assessed. The extracts showed to be nontoxic, moreover, there were no differences between different extracts used on the same cell lines. The same was confirmed for yogurts fortified with the extracts, where cell viability was even higher, except for the case of

ethanol extract fortified yogurt and the control sample. The highest viability was observed in the non-tumoral cell line (S17), where viabilities over 100 % were obtained when compared with the control samples (Bratkič, 2022). Physicochemical properties of fortified yogurts were assessed in terms of color, pH, S and WHC at $t = 0$ and $t = 7$. For color, there was an increase in redness (a^*) and yellowness (b^*) of fortified yogurts compared to control at $t = 0$, but no differences were observed between samples at $t = 7$. The addition of extracts did not affect yogurts' lightness (L^*), except for the ethanol fortified yogurt at $t = 0$. Similarly, when looking at the influence of storage time a decrease in L^* was only observed for ethanol extract fortified yogurt (Bratkič, 2022).

Fortifications of yogurts with the Hottentot-fig peels extracts did not alter the pH, which is one of the important features in maintaining yogurt stability during storage time. Except during different storage times for ethanol and water extracts fortified yogurts, where pH increased at $t = 7$. S and WHC were evaluated as part of important yogurt quality parameters. S increased at $t = 7$ days storage in all yogurts but the significant increase in S was only seen in yogurts supplemented with the ethanol extract. The S of fortified yogurts decreased at $t = 0$, when compared with control samples. In general, the values of S for fortified samples were lower than the control sample. Inversely the control sample had the lowest WHC values, while fortified samples had the highest WHC (Bratkič, 2022).

Regarding the nutritional properties, there were no differences in the moisture levels between different storage times, except for the control group where the moisture decreased slightly more during the storage time. The results in regards to ash content showed that when comparing the control group with fortified yogurts, there was a significant increase of ash at $t = 0$ and $t = 7$, respectively. The addition of Hottentot-fig extracts did not change the nutritional profile of the yogurts in terms of crude protein nor were there changes in crude protein during cold storage. The results regarding mineral content of yogurts for macroelements indicated that compared to control the addition of the water extracts showed a significant increase in the case of Na and Mg at $t = 0$, while the addition of ethanol and hydroethanolic extracts resulted in a significant decrease of the K content in yogurts, at $t = 0$. Regarding the levels of the microelements (Fe, Zn, Mn, and Cu) when compared to the control sample the addition of the water and hydroethanolic extracts resulted in a significant increase of Mn at both storage times. While the addition of the extracts in yogurts did not affect other essential elements values such as Fe, Zn, and Cu. Concerning toxic elements (Cr, Pb, Ni, and Cd) only Ni was detected in all samples, including control, in low levels (Bratkič, 2022).

5 CONCLUSIONS

Based on the results of this MSc thesis it can be concluded:

- the addition of the Hottentot-fig fruit peels extracts did not negatively modify the nutritional composition of the yogurts,
- the addition of Hottentot-fig fruit peels extracts to yogurts did not significantly affect physicochemical properties of yogurts such as syneresis, water holding capacity, and in some cases even improved them,
- yogurts fortified with the water and ethanol extracts of Hottentot-fig fruit peels showed a higher antioxidant capacity than the control.

6 SUMMARY

There is a growing interest for the use of natural additives in the food industry that may prevent oxidative processes, microbial breakdown of food, prevent spoilage, and provide new innovative functional products. Hottentot fig is an invasive plant with reported high antioxidant activity and in this master thesis, we tested the effect of adding ethanol, water and hydroethanolic extracts made from Hottentot-fig (*Carpobrotus edulis* L.) fruits peels on the physicochemical, nutritional, antioxidant and toxic properties of obtained functionalized products-yogurts.

Since this is the first study done on the addition of Hottentot fig extract to yogurt matrix, it shows promising results. The incorporation of Hottentot fig extract with the dairy matrix can be considered a dietary bio accessible

source of phenolics. Considering the fact that Hottentot-fig is an invasive species its consumption is a cost-efficient and environmentally friendly way of eradicating it and offering the consumer a new functional food as a source of bioactive compounds that also act as a natural additive and prevent lipid oxidation and spoilage of the product that increases the antioxidant properties of yogurts. Overall, the addition of extracts also did not negatively affect parameters such as syneresis and water holding capacity and possibly even improve the quality of yogurt with polyphenols interacting with yogurt proteins and stabilizing the gel matrix.

7 REFERENCES

- Akinyede K. A., Okobi E. E., Oluwafemi O. O. 2020. Ethnopharmacology, Therapeutic Properties and Nutritional Potentials of *Carpobrotus Edulis*: A Comprehensive Review. *Scientia Pharmaceutica*, 88(3): 1–16, doi: [10.3390/scipharm88030039](https://doi.org/10.3390/scipharm88030039)
- Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D. 2018. Overview of Polyphenols and Their Properties. In: *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*, 3-44, doi: [10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4)
- Bonner G., Warwick H., Barnardo M., Lobstein T. 1999. Fortification Examined - How Added Nutrients Can Undermine Good Nutrition. A survey of 260 food products with added vitamins and minerals. 2nd ed. In: *The Food Commission (UK)*, London, 1–115 <http://www.foodcomm.org.uk/pdfs/fortification.PDF> (april 2025)
- Boskou D. 2006. Olive Oil. In: *Chemistry and Technology*, 2nd ed., New York: 288, https://archive.org/stream/Olive_Oil_Chemistry_and_Technology_Second_Edition_by_Dimitrios_Boskou/Olive_Oil_Chemistry_and_Technology_Second_Edition_by_Dimitrios_Boskou_djvu.txt (april 2025)
- Bratkič K. 2022. Fortification of yogurt with fruits of Hottentot-fig (*Carpobrotus edulis* L.). M.Sc. Thesis. Ljubljana, University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Food Science and Technology: 72, <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=156584&lang=slv> (april 2025)
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11): 317–33, doi: [10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x)
- Broomhead N. K., Moodley R., Jonnalagadda S. B. 2020. Chemical and Elemental Analysis of the Edible Fruit of Five *Carpobrotus* Species from South Africa: Assessment of Nutritional Value and Potential Metal Toxicity. *International Journal of Environmental Health Research*, 30(4): 357–71, doi: [10.1080/09603123.2019.1595539](https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1595539)
- Caleja C., Barros L., Antonio A. L., Carochio M., Oliveira M. B. P. P., Ferreira I. C. F. R.. 2016. Fortification of Yogurts with Different Antioxidant Preservatives: A Comparative Study between Natural and Synthetic Additives. *Food Chemistry*, 210: 262–68, doi: [10.1016/j.foodchem.2016.04.114](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114)
- Campoy J. G., Acosta A. T. R., Affre L., Barreiro R., Brundu G., Buisson E., González L., Lema M., Novoa A., Retuerto R., Roiloa S. R., Fagúndez J. 2018. Monographs of Invasive Plants in Europe: *Carpobrotus*. *Botany Letters*, 165(3–4): 440–75, doi: [10.1080/23818107.2018.1487884](https://doi.org/10.1080/23818107.2018.1487884)
- Castañeda-Loaiza V., Placines C., João Rodrigues M., Pereira C., Zengin G., Uysal A., Jeko J., Cziáky Z., Pinto Reis C., Gaspar M. M., Custódio L. 2020. If You Cannot Beat Them, Join Them: Exploring the Fruits of the Invasive Species *Carpobrotus Edulis* (L.) N.E. Br as a Source of Bioactive Products. *Industrial Crops and Products*, 144: 112005, doi: [10.1016/j.indcrop.2019.112005](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112005)
- Eggle H., Hartmann E. K. 2003. *Illustrated Handbook of Succulent Plants: Aizoacea*. Second Edition. Vol. 2.
- Gulcin İ. 2020. Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. *Archives of Toxicology*, 94: 651–715, doi: [10.1007/s00204-020-02689-3](https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3)
- Hafsa J., Hammi K. M., Khedher M. R. B., Smach M. A., Charfeddine B., Limem K., Majdoub H. 2016. Inhibition of Protein Glycation, Antioxidant and Antiproliferative Activities of *Carpobrotus Edulis* Extracts. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 84: 1496–1503, doi: [10.1016/j.biopha.2016.11.046](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.046)
- Hartmann H. E. K. 2001. *Illustrated Handbook of Succulent Plants: Aizoaceae A-E*.
- Hashemi Gahruei H., Eskandari M. H., Mesbahi G., Hanifpour M. A. 2015. Scientific and Technical Aspects of Yogurt Fortification: A Review. *Food Science and Human Wellness*, 4(1): 1–8, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.03.002>
- Karaaslan M., Ozden M., Vardin H., Turkoglu H. 2011. Phenolic Fortification of Yogurt Using Grape and Callus Extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4): 1065–72, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.009>
- Kinnula V. L., Crapo J. D. 2004. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. *Free Radical Biology and Medicine* 36(6): 718–44. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2003.12.010](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.12.010)

- Lee K. J., Oh Y. O., Cho W. K., Ma J. Y. 2015. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity Determination of One Hundred Kinds of Pure Chemical Compounds Using Offline and Online Screening HPLC Assay. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, doi: <https://doi.org/10.1155/2015/165457>
- Lourenço S. C., Moldão-Martins M., Alves V. D. 2019. Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. Molecules, 24, 4132, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>
- Martysiak-Zurowska D., Wenta W. 2012. A Comparison of ABTS and DPPH Methods for Assessing the Total Antioxidant Capacity of Human Milk. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria 11(1): 83–89
- Nagaoka S. 2019. Yogurt Production. Methods in Molecular Biology, 1887: 45–54, doi: [10.1007/978-1-4939-8907-2_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8907-2_5)
- Neves M., Antunes M., Fernandes W., Campos M. J., Azevedo Z. M., Freitas V., Rocha J. M., Tecelão C. 2021. Physicochemical and Nutritional Profile of Leaves, Flowers, and Fruits of the Edible Halophyte Chorão-Da-Praia (*Carpobrotus Edulis*) on Portuguese West Shores. Food Bioscience, 43(6): 101288, doi: [10.1016/j.fbio.2021.101288](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101288)
- Nimse S. B., Pal D. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. RSC Advances, 5(35): 27986–6, doi: [10.1039/C4RA13315C](https://doi.org/10.1039/C4RA13315C)
- Omoruyi B. E., Afolayan A. J., Bradley G. 2014. The Inhibitory Effect of Mesembryanthemum Edule (L.) Bolus Essential Oil on Some Pathogenic Fungal Isolates. BMC Complementary and Alternative Medicine, 14: 1–7, doi: [10.1186/1472-6882-14-168](https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-168)
- Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. 2016. Flavonoids: An Overview. Journal of Nutritional Science, 5, doi: [10.1017/jns.2016.41](https://doi.org/10.1017/jns.2016.41)
- Pietta P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products, 63(7): 1035–42. doi: [10.1021/np9904509](https://doi.org/10.1021/np9904509)
- Ribeiro T. B., Bonifácio-Lopes T., Morais P., Miranda A., Nunes J., Vicente A. A., Pintado M. 2021. Incorporation of Olive Pomace Ingredients into Yoghurts as a Source of Fibre and Hydroxytyrosol: Antioxidant Activity and Stability throughout Gastrointestinal Digestion. Journal of Food Engineering, 297: 110476, doi: [10.1016/j.jfoodeng.2021.110476](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110476)
- Rocha M. I., Rodrigues M. J., Pereira C., Pereira H., da Silva M. M., da Rosa Neng N., Nogueira J. M. F., Varela J., Barreira L., Custódio L. 2017. Biochemical Profile and in Vitro Neuroprotective Properties of *Carpobrotus Edulis* L., a Medicinal and Edible Halophyte Native to the Coast of South Africa. South African Journal of Botany, 111:222–31, doi: [10.1016/j.sajb.2017.03.036](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.036)
- Singh U., Jialal I. 2006. Oxidative Stress and Atherosclerosis. Pathophysiology 13(3): 129–42. doi: [10.1016/j.pathophys.2006.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.002)
- Smith M. A., Rottkamp C. A., Nunomura A., Raina A. K., Perry G. 2000. Oxidative Stress in Alzheimer's Dementia. Biochimica et Biophysica Acta, 1502: 139–44, doi: [10.1016/s0925-4439\(00\)00040-5](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(00)00040-5)
- Tagliazucchi D., Helal A., Verzelloni E., Bellesia A., Conte A. 2016. Composition and Properties of Peptides That Survive Standardised in Vitro Gastro-Pancreatic Digestion of Bovine Milk. International Dairy Journal 61: 196–204, doi: [10.1016/j.idairyj.2016.06.002](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.002)
- van der Watt E., Pretorius J. C. 2001. Purification and Identification of Active Antibacterial Components in *Carpobrotus edulis* L. Journal of Ethnopharmacology, 76(1): 87–91, doi: [10.1016/s0378-8741\(01\)00197-0](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(01)00197-0)

Prispevek je močno skrajšana verzija istonaslovne mag. naloge.

VPLIV VODNIH IZVLEČKOV BUKOVEGA OSTRIGARJA *PLEUROTUS OSTREATUS* NA MIKROBIOLOŠKO OBSTOJNOST KRUHA

Jerneja BURGAR¹, Meta STERNIŠA², Jana ZAHOREC³, Dragana ŠORONJA-SIMOVIĆ⁴, Jerica SABOTIČ⁵, Sonja SMOLE MOŽINA⁶ in Anja KLANČNIK⁷

Povzetek: Kruh je osnovno živilo, saj je njegova priprava preprosta, ima dobre hranljive in senzorične lastnosti, surovine pa so enostavno dosegljive. Glavne sestavine pšeničnega kruha so moka, voda, vzhajalno sredstvo (pekovski kvas oz. *Saccharomyces cerevisiae*), sladkor, sol in maščoba. Rok uporabe kruha omejujejo fizikalno-kemijske reakcije staranja in mikrobiološki kvar kruha. Mikrobiološki kvar kruha večinoma povzročajo plesni. Med pripravo testa za kruh se lahko dodajo temperaturno odporni konzervansi, ki preprečujejo rast plesni na pečenem kruhu. Trend v pekarstvu pa je zamenjava konzervansov s funkcionalnimi dodatki v kruh, ki obogatijo hranilno vrednost ter delujejo protimikrobno. V tem delu smo uporabili hladnovodni in vročevodni izvleček gobe bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*) kot funkcionalni dodatek kruhu, ki deluje protimikrobno. Kruh smo pripravili po treh različnih metodah: (i) priprava kontrolnega kruha, (ii) priprava testa z zamenjavo dela vode z dodatkom vročevodnega izvlečka in (iii) priprava kruha, na katerega smo z razprševanjem nanесли vročevodni ter hladnovodni izvleček. Testirali smo tehnološke lastnosti kruha za oceno primernosti industrijske priprave testa z dodanim izvlečkom. Testirali smo tudi senzorične lastnosti tako pripravljenega kruha. Izvedli smo mikrobiološke teste (obremenitveni test in test mikrobiološke obstojnosti) s pogostimi kontaminanti kruha (tj. *Aspergillus flavus* in *Penicillium verrucosum*). Z dodajanjem dodatka vročevodnega izvlečka v testo in z nanosom dodatkov na površino pečenega kruha nismo dokazali daljše mikrobiološke obstojnosti kruha.

Ključne besede: kruh, fermentacija, funkcionalna živila, bukov ostrigar, *Pleurotus ostreatus*

THE EFFECT OF *PLEUROTUS OSTREATUS* AQUEOUS EXTRACTS ON MICROBIOLOGICAL STABILITY OF BREAD

Abstract: Bread is a staple food due to its simple preparation, good nutritional and sensory properties, and easily accessible ingredients. The main ingredients of wheat bread are flour, water, a leavening agent (baker's yeast or *Saccharomyces cerevisiae*), sugar, salt, and fat. Its shelf life is limited by physicochemical staling processes and microbial spoilage, the latter mostly caused by molds. During dough preparation, heat-resistant preservatives can be added to prevent mold growth on baked bread. However, a growing trend in the food industry is replacing preservatives with functional additives that enhance the nutritional value of bread and exhibit antimicrobial effects. As part of this master's thesis, cold water and hot water extracts of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) were used as functional antimicrobial bread additives. Bread was prepared using three different methods: (i) preparation of control bread, (ii) preparation of dough in which part of the water was replaced with hot water extract, and (iii) preparation of bread onto which both hot-water and cold-water extracts were sprayed after baking. We tested the technological properties of such bread to assess the feasibility of industrial dough preparation with added extracts. Sensory acceptability of the modified bread was also evaluated. Microbiological tests (challenge test and microbial shelf-life test) were performed using common bread contaminants (*Aspergillus flavus* and *Penicillium verrucosum*). The addition of hot water extract to the dough and surface application of extracts to the baked bread did not result in improved microbial shelf life.

Keywords: bread, fermentation, functional foods, oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: burgar.jerneja@gmail.com

² doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, e-mail: meta.sternisa@bf.uni-lj.si

³ dr., Univerza v Novem Sadu, Tehnološka fakulteta, Katedra za inženirstvo ogljikohidratnih živil, Bul. Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija, e-mail: jana.zahorec@tf.uns.ac.rs

⁴ prof., Univerza v Novem Sadu, Tehnološka fakulteta, Katedra za inženirstvo ogljikohidratnih živil, Bul. Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija, e-mail: dragana@tf.uns.ac.rs

⁵ viš. znan. sod. dr., Inštitut »Jožef Stefan«, Odsek za biotehnologijo, Jamova 39, 1000 Ljubljana, e-mail: jerica.sabotic@ijs.si

⁶ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sonja.smole@bf.uni-lj.si

⁷ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: anja.klancnik@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Mikrobiološki kvar kruha, kjer največji delež predstavlja plesenje kruha, prinaša velike ekonomske izgube pekarski industriji. Rast plesni na kruhu negativno vpliva na izgled, senzorične lastnosti zaradi encimske razgradnje kruha in predstavlja možnost tvorbe mikotoksinov. Mikrobiološka rast se pojavi hitro, saj ima kruh ugodne intrinzične dejavnike za rast bakterij in plesni, kot sta vrednost pH (5,5 – 6,0) in vrednost a_w (0,95 – 0,98). V Evropi lahko letna izguba zaradi mikrobiološke kvara predstavlja preko 220 milijonov evrov (Axel in sod., 2017; Garcia in sod., 2019).

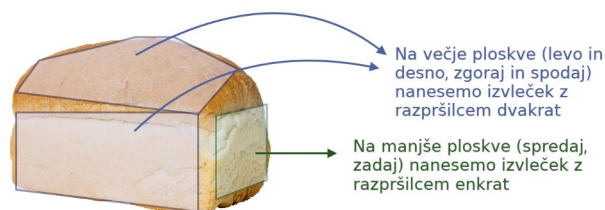
Živilska industrija se vedno razvija v skladu z zahtevami in pričakovanji potrošnikov. V zadnjem desetletju med izrazite trende pekarske industrije spada tudi omejevanje kemijskih konzervansov ter uporaba mešane fermentacije z mlečnokislinskimi bakterijami in kvasovkami in uporaba širokega spektra funkcionalnih dodatkov kruhu (Rosell, 2019; Kovač in sod., 2025). Gobe se pogosto uporabljajo kot funkcionalen dodatek živilom zaradi ugodne hranilne sestave ter vsebnosti bioaktivnih snovi (Mingy in sod., 2019). Saprofit bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*) (slika 1) ima visoko vsebnost beljakovin in prehranskih vlaknin. Poleg tega ima dokazano antioksidativno in protimikrobno delovanje, zavira rast plesni in bakterij (Adebayo in Oloke, 2017). Zaradi enostavnega gojenja, dobre hranilne sestave ter predvidenega protimikrobnega učinka je bil izbran kot potencialni funkcionalni dodatek kruhu, s katerim bi izboljšali hranilno vrednost in podaljšali njegov rok trajanja.



Slika 1. Bukovi ostrigarji (vir slike: Volodymyr Tokar, Unsplash).

2 MATERIAL IN METODE

Pripravo vročevodnega in hladnovodnega izvlečka bukovega ostrigarja smo izvedli v sodelovanju z Institutom »Jožef Stefan«. Izvlečka smo pripravili iz plodišča bukovega ostrigarja. Praktični del magistrske naloge je bil opravljen na Tehnološki fakulteti v Novem Sadu na Katedri za inženirstvo ogljikohidratnih živil v okviru izmenjave študentov mreže CEEPUS. Izvlečke smo uporabili na dva načina: i) nanos hladnovodnega ali vročevodnega izvlečka na površino z razprševanjem, ii) uporaba vročevodnega izvlečka kot zamenjava deleža uporabljene vode pri zamesi testa (Slika 2).



Slika 2: Shema nanosa hladnovodnega ali vročevodnega izvlečka bukovega ostrigarja (dodatek 10 %, 50 % ali 100 %).

Tretji način priprave kruha pa je vključeval zamenjavo določenega deleža uporabljene vode pri zamesu testa z dodatkom vročevodnega ekstrakta bukovega ostrigarja. Testo je bilo pripravljeno z dvema različnima koncentracijama dodatkov, 2 % (VI2) in 10 % (VI10). Priprava testa je bila vedno izvedena v farinografski mesilnici ter vzhajano v termostatu, da smo zagotovili čimbolj enakomeren in robusten proces za vse peke kruha. Za kontrolni kruh ter kruh z dodatkom vročevodnega ekstrakta smo določili reološke lastnosti testa. Izvedli smo farinografski, ekstenziografski, Kifferjev in maturografski test. S pomočjo reoloških testov smo določili viskoelastične lastnosti testa, ki so povezane s kakovostjo uporabljene moke (Preston in Williams, 2003). Za ovrednotenje vpliva dodanega izvlečka smo kruhom določili kemijsko sestavo ter fizikalno-tehnološke lastnosti. Senzorične lastnosti smo določili z 9-točkovno hedonsko lestvico.

Mikrobiološko obstojnost kruha smo analizirali po dveh metodah:

- (i) Test mikrobiološke obstojnosti, kjer simuliramo običajne pogoje, ki jim je živilo izpostavljeno ter po inkubaciji dnevno spremljamo pojav mikrobiološke rasti;
- (ii) Obremenitveni test živila z izpostavitvijo znanemu kontaminantu v določeni koncentraciji – uporabili smo plesni *Aspergillus flavus* in *Penicillium verrucosum*.

Pri obeh mikrobioloških testih smo testirali tipe kruha, pripravljene na vse opisane načine. Dodatno smo kruhom izmerili vrednost pH in a_w , saj so odraz primernosti živila za mikrobiološko rast.

Rezultate analiz smo podali kot povprečja paralelk $\pm$ standardni odklon (sd). Rezultate analiz smo zbrali in uredili v programu Microsoft Excel 365. Statistično analizo smo izvedli z analizo variance (ANOVA) in v nadaljevanju t-Test. Za statistično različno smo določili vrednost $P < 0,05$.

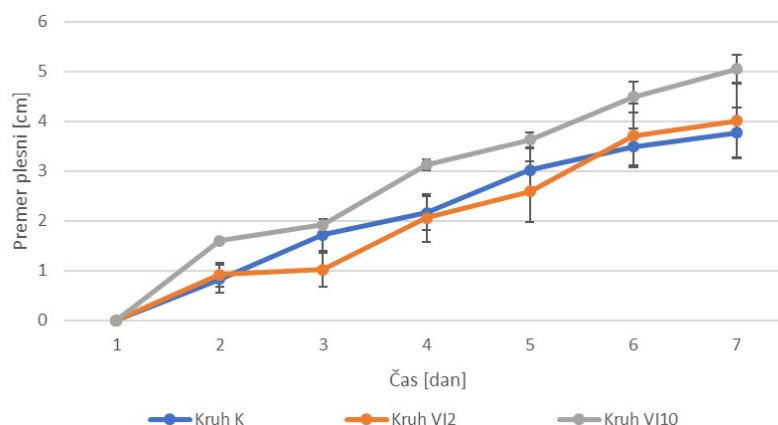
3 REZULTATI Z RAZPRAVO

Dokazali smo, da se vročevodni izvleček dobro vmeša v testo in povečuje vpijanje vode med zamesom testa. Testo z dodatkom ekstrakta je bolj stabilno in primernejše za obdelavo kot testo z dodatkom zmletga posušenega plodišča gobe (Ndung'u in sod., 2015). Pri obdelavi fizikalnih in tehnoloških lastnosti kruha ni bistvenih razlik med kruhom K in kruhom VI2 ter VI10 v specifičnem volumnu, višini kruha, meritvah barve sredice ter skorje kruha, razen pri meritvi vrednosti L^* (svetlost) za kruh VI2. Pri meritvi teksturnih lastnosti se kruh VI2 pri parametrih trdnosti in gumijavosti razlikuje od kruha K in VI10. Kruh VI2 je bil najtrši in najbolj gumijast.

Glede na kemijsko sestavo vzorcev, se delež reducirajočih sladkorjev povečal (kruh K 7,2 %, kruh VI10 9,6 %). Rezultati senzorične analize kažejo poslabšanje senzorične kakovosti kruha.

Pri določitvi intrinzičnih dejavnikov je bila statistično značilna razlika med vrednostjo a_w kruha VI10 ter kruha K in VI2. Z večjo vsebnostjo ekstrakta se vrednost a_w povečuje (kruh VI10 ima vrednost a_w nad 0,97). Plesen *Penicillium verrucosum* optimalno raste na kruhu v območju vrednosti a_w 0,96 – 0,97 ter pri vrednosti pH 6 (Arroyo in sod., 2005). Plesen *Aspergillus flavus* ne raste pod vrednostmi 0,90 aktivnosti vode (Dagnas in sod., 2014).

Mikrobiološki testi so bili izvedeni na vseh treh različicah pripravljenega kruha. Rezultati testiranja mikrobiološke obstojnosti ter obremenitvenih testov s plesnimi so kazali podobne rezultate. Primer rezultatov obremenitvenega testa je prikazan na Sliki 3. Iz grafičnega prikaza premera plesni je razvidno, da je bila rast najhitrejša pri kruhu VI10, ki je vseboval največji dodatek ekstrakta. Rast plesni na kruhu K in kruhu VI2 je bila primerljiva.



Slika 3: Grafični prikaz rasti plesni *Aspergillus flavus* na rezinah kruha.

Glede na rezultate mikrobioloških analiz lahko sklepamo, da nanos izvlečka bukovega ostrigarja na površino ohlajenega kruha po peki ne zavira rasti mikroorganizmov, temveč jo celo pospeši. Rast mikroorganizmov je hitrejša pri bolj koncentriranem nanosu izvlečka, tako hladnovodnega kot vročevodnega. Možna razlaga je, da z nanosom tekočine na površino kruha povečamo dostopnost vode (vrednost a_w) za prisotne mikroorganizme, kar pospeši njihovo rast. Poleg tega z nanosom bolj koncentriranega izvlečka na skorjo kruha nanesemo tudi hranilne snovi, ki lahko spodbujajo rast mikroorganizmov.

4 ZAKLJUČEK

Z uporabo gobe kot funkcionalnega dodatka v obliki ekstrakta zmanjšamo vpliv na reološke lastnosti, videz testa in senzorične lastnosti kruha. To je prednost uporabe izvlečka, glede na uporabo gobjega liofilizata, za katerega je znano, da spreminja reološke in senzorične lastnosti kruha. Pri izvedbi testa mikrobiološke obstojnosti kruha in obremenitvenega testa se dodatek vročevodnega izvlečka v testo ali nanos dodatka na kruh ni izkazal za učinkovitega pri zaviranju rasti plesni. Predvidevamo, da je bila rast plesni na vzorcih z nanosom izvlečka na površino kruha pospešena zaradi dviga vrednosti a_w in dodatka hranilnih snovi.

5 ZAHVALA

Delo oz. sodelovanje raziskovalnih skupin Biotehniške fakultete Ljubljana in Tehnološke fakultete v Novem Sadu je omogočila izmenjava študentov v mreži Ceepus III HR-0306 ter program P4-0116 in P4-0432.

6 VIRI

- Adebayo E. A., Oloke J. 2017. Oyster mushroom (*Pleurotus species*); A natural functional food. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7, 3: 254-264
- Arroyo M., Aldred D., Magan N. 2005. Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effects on control of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 3: 223-231
- Axel C., Zannini, E., Arendt, E.K. 2017. Mold spoilage of bread and its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf life extension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3528–3542. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1147417>
- Dagnas S., Onno B., Membre J.-M. 2014. Modeling growth of three bakery product spoilage molds as a function of water activity, temperature and pH. *International Journal of Food Microbiology*, 186: 95-104
- Garcia M. V., Bernardi A. O., Copetti M. V. 2019. The fungal problem in bread production: Insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29: 1-6
- Kovač B., Šporin M., Smole Možina S. 2025. Kruh naš vsakdanji – funkcionalno in trajnostno živilo prihodnosti. V: Kaj bomo jedli jutri – hrana v trajnostnih prehranskih sistemih. 32. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, 5. junij 2025. Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 15. str.
- Preston K.R., Williams P.C. 2003. Flour: analysis of wheat flours. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. Caballero B., Trugo L., Finglas P. M. (ur.). Amsterdam, Academic Press: 2543-2550

- Rosell C. M. 2019. Trends in science of doughs and bread quality. V: Flour and breads and their fortification in health and disease prevention. Preedy V., Watson R., Patel V. (ur.). Cambridge, Academic Press: 333-343
- Mingyi Y., Belwal T., Devkota H. P., Li L., Luo Z. 2019. Trends of utilizing mushroom polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: A comprehensive review. Trends in Food Science Technology, 92: 94-110
- Ndung'u S. W., Otieno C. A., Onyango C., Musieba F. 2015. Composition of polyphenols in wheat bread supplemented with *Pleurotus ostreatus* mushroom. American Journal of Food Technology, 10, 6: 273–278

VPLIV TRANSGLUTAMINAZ NA TEKSTURNE LASTNOSTI MESNIH EMULZIJ

Tina GREGORČIČ¹ in Tomaž POLAK²

Povzetek: Namen magistrskega dela je bil spremljati vpliv dodatka transglutaminaz na teksturne lastnosti mesnih emulzij. Vzorcem mesnih emulzij smo del mesa nadomestili s škrobno frakcijo rumenega fižola (fižol mungo) in dodali različne deleže transglutaminaze (0,250 g/kg, 0,375 g/kg in 0,500 g/kg) ter jih na ta način poskušali približati primerljivim komercialnim izdelkom (barjene klobase). Pripravljene emulzije smo nato inkubirali pri različnih časih in temperaturah (brez inkubacije, 4 h pri sobni temperaturi, 4 h pri 5 °C in 24 h pri 5 °C). Poskus smo izvedli v treh sklopih, v vsakem smo uporabili drugačno recepturo. V prvem sklopu smo polovici vzorcev dodali škrobno frakcijo rumenega fižola, drugi polovici pa škrobno frakcijo rumenega fižola z zaklejenim škrobom. Vsi vzorci v prvem sklopu so vsebovali tudi fosfatni preparat. V drugem sklopu so vsi vzorci vsebovali škrobno frakcijo rumenega fižola z zaklejenim škrobom, vendar brez fosfatnega preparata. V tretjem sklopu smo izvedli optimizacijo ter pripravili vzorce emulzij brez dodanih aditivov. Vzorci z dodatkom škrobne frakcije z zaklejenim škrobom in fosfatnim preparatom so bili po teksturnih parametrih najbolj primerljivi s komercialnimi izdelki.

Ključne besede: mesne emulzije, transglutaminaza, fižol mungo, teksturne lastnosti, stabilnost mesnih emulzij

EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON TEXTURAL PROPERTIES OF MEAT EMULSIONS

Abstract: The aim of this study was to monitor the effect of the addition of transglutaminase on the textural properties of meat emulsion samples. A portion of the meat was removed from the samples and replaced by the starch fraction of yellow mung beans and different proportions of transglutaminase were added (0.250 g/kg, 0.375 g/kg and 0.500 g/kg). In this way we tried to imitate comparable commercial products. The samples were then incubated at different times and temperatures (no incubation, 4 h at room temperature, 4 h at 5 °C and 24 h at 5 °C). The samples were prepared in three sections and a different recipe was used in each section. In the first section, a starch fraction of yellow mung beans was added to half of the samples and a starch fraction of yellow mung beans with gelatinised starch was added to half of the samples. All samples in the first section contained phosphate. In the second section, all samples contained the starch fraction of the yellow mung beans with gelatinised starch and phosphate was taken from the recipe. The third section represented an optimisation and samples without added additives were prepared. In relation to the textural parameters, the samples with the addition of the starch fraction with gelatinised starch and phosphate achieved the most comparable values to commercial products.

Keywords: meat emulsion, transglutaminase, mung bean, texture, stability of meat emulsions

¹ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, tina215gregorcic@gmail.com

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, tomaz.polak@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Poraba mesa se z leti povečuje, predvsem zaradi rasti svetovnega prebivalstva, kar bo posledično vodilo tudi v naraščanje povpraševanja. Hitro širjenje pridelave krme za živali je povzročilo številne okoljske vplive, kot so krčenje gozdov, emisije toplogrednih plinov, povečana poraba vode in evtrofikacija. V prihodnosti svetovnega povpraševanja po živalskih beljakovinah ne bo mogoče v celoti zadovoljiti, razen če ne bo prišlo do sprememb v obstoječem sistemu pridelave in preskrbe s hrano (Huang in sod., 2022). Na trgu je tako opaziti porast rastlinskih nadomestkov mesa, kar je posledica nizke učinkovitosti pridelave mesa, vse večjega zavedanja o negativnih vplivih mesnih izdelkov na zdravje, okoljskih pritiskov, povezanih z živinorejo, ter skrbi za dobrobit živali (Sha in Xiong, 2020). V mesnopredelovalni industriji se v skladu z željami potrošnikov uveljavlja trend razvoja klasičnih mesnih izdelkov s spremenjeno sestavo, na primer z zmanjšano vsebnostjo maščob, soli, nitritov in celo mesa. Slednjega se pogosto nadomešča z rastlinskimi beljakovinami, ogljikovimi hidrati ter hidrokoloidi. Žal pa odstranitev omenjenih spojin pogosto povzroči številne nezaželene spremembe, kot so slabša mikrobiološka stabilnost, nižja senzorična sprejemljivost in slabša sposobnost vezave vode – spremembe, ki jih je običajno težko nadomestiti (Weiss in sod., 2010). V takih primerih se vse pogosteje uporablja encim transglutaminaza, ki omogoča povezovanje beljakovin, s čimer izboljšamo teksturo in končno sprejemljivost izdelkov (Akbari in sod., 2021).

Namen magistrskega dela je bil spremljati vpliv dodatka transglutaminaze na teksturne lastnosti mesnih emulzij ter ustvariti izdelek s teksturo, primerljivo komercialnim mesnim izdelkom. Pripravili smo različne mesne emulzije, pri katerih smo znižali delež mesne sestavine in ga nadomestili z rastlinskim delom – škrobno frakcijo rumenega fižola, ki je odličen vir vitaminov, mineralov in beljakovin, dobro prebavljiv in z pozitivnimi učinki na zdravje (Li in sod., 2010).

2 MATERIAL IN METODE

Izdelava mesnih emulzij je v nadaljevanju na kratko opisana. V ohlajeno posodo kutra (Stephan UMC 5 electronic, A. Stephan u. Söhne GmbH & Co, Nemčija) smo dodali namrznjeno meso in polovico ledu, premešali ter dodali aditive (Aroma UK). Nato smo primešali nitritno sol, škrob rumenega fižola, začimbe, mleto papriko, prehransko vlaknino, karmin, jodirano sol, kalijev klorid in želatino (odvisno od posameznega sklopa poskusa; glej Preglednico 1). Homogenizacija je potekala pri 2100 obratih/min do temperature mase 8 °C. Nato smo dodali preostali led in palmino maščobo, povečali obrate na 2700 obratov/min, in pri temperaturi 12 °C dodali transglutaminazo (TG). Mešanje smo nadaljevali do 16 °C; pri vzorcih brez TG pa smo ta korak izpustili. Emulzijo smo s pomočjo batnega polnilnika napolnili v umetne ovitke (premer 35 mm) in vakuumirali. Vzorce smo inkubirali: 0 h (kontrola), 4 h pri sobni temperaturi, 4 h pri 5 °C in 24 h pri 5 °C. Toplotna obdelava v konvektomatu je v vlažni toploti potekala v več fazah: 80 min pri 40 °C, 60 min pri 60 °C in 30 min pri 68 °C. Ohlajene vzorce smo do analiz hranili pri 5 °C.

Preglednica 1 prikazuje recepture vzorcev mesnih emulzij, razdeljene v tri sklope. V sklopu 1 smo pripravili osem vzorcev z različnimi vsebnostmi TG. V sklopu 2 smo pripravili tri vzorce z različnimi vsebnostmi TG. V sklopu 3 pa smo pripravili po en vzorec z dodatkom 0,5 g TG/kg emulzije. Vsak vzorec smo razdelili na štiri dele in jih inkubirali pri različnih časih in temperaturah (brez inkubacije, 4 ure pri sobni temperaturi, 4 ure pri 5 °C in 24 ur pri 5 °C). V sklopu 3 smo vse vzorce inkubirali 24 ur pri 5 °C. Frakcijo rumenega fižola z zaklejenim škrobom (ZKM) smo pripravili tako, da smo zatehtali 100 g škrobne frakcije, dodali 300 g vode in mešanico toplotno obdelali v parni pečici (80 °C, 1 ura).

Barvo smo merili s kromometrom (CR-400, Konica Minolta, Japonska) na štirih točkah prereza toplotno obdelane in ohlajene mesne emulzije. Barvo smo ovrednotili s pomočjo barvnih vrednosti L^* , a^* in b^* . Z NIR spektroskopijo (Food ScanTM Lab Meat Analyzer, FOSS, Danska) smo določili vsebnost vode, beljakovin in maščobe. pH mesnih emulzij smo določali s pH-metrom (Testo 206). Teksturne parametre vzorcev smo ocenili z metodo TPA (ang. Texture Profile Analysis; TTC, 2020), stabilnost emulzij pa z določanjem razlike med maso pred in po segrevanju (upoštevajočo izločeno tekočino).

Error! Reference source not found.: **Recepture vzorcev mesnih emulzij, pripravljenih v treh sklopih praktičnega dela**

Surovina (%)	1. sklop	2. sklop	3a. sklop	3b. sklop
mleto prašičje pleče	35	35	35	12
mleto goveje pleče	-	-	-	23
palmina maščoba	10	10	10	10
led	45	45	45	45
škrobna frakcija rumenega fižola	10	-	-	-
škrobna frakcija rumenega fižola z zaklejenim škrobom	-	10	10	10
nitritna sol	1,8	1,8	-	-
jodirana morska sol, fino mleta	-	-	1,8	1
kalijev klorid	-	-	-	0,4
fosfatni preparat (Aroma UK: dekstroza, E 450, 451 in 316)	0,5	-	-	-
začimbna mešanica	0,5	0,5	0,5	0,5
sladka paprika v prahu	0,2	0,2	0,2	0,2
želatina	-	-	1	1
prehranska vlaknina (bambus)	-	-	0,05	0,05
karmin	-	-	0,01	0,005
različni dodatki TG (g/kg emulzije)				
(BDF PROBIND TXo 9.0, BDF Natural Ingredients, Španija)				
MP	0	-	-	-
MP	0,250	-	-	-
MP	0,375	-	-	-
MP	0,500	-	-	-
ZKM	0	-	-	-
ZKM	0,250	0,250	-	-
ZKM	0,375	0,375	-	-
ZKM	0,500	0,500	-	-
ZKM – 80 °C, para	-	-	0,500	-
ZKM – 100 °C, para	-	-	-	0,500
ZKM – 150 °C, brez pare	-	-	-	0,500
ZKM – pražena moka	-	-	-	0,500

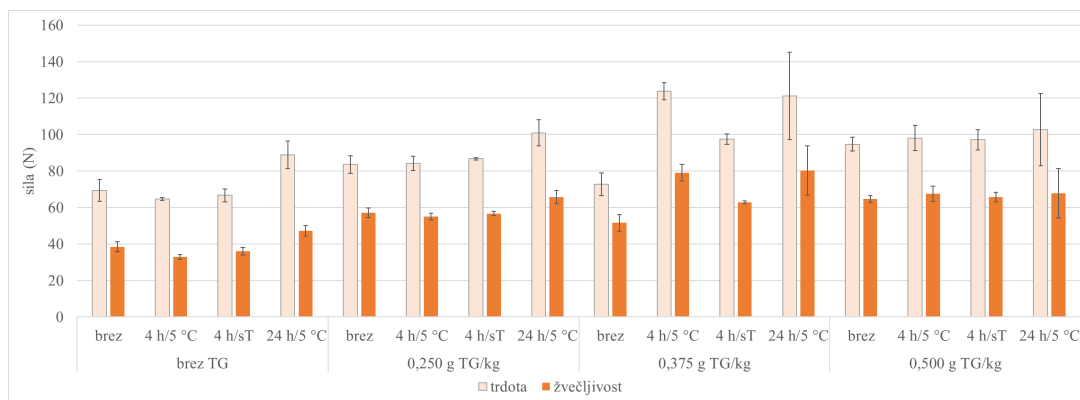
TG: transglutaminaza; P: fosfatni preparat; MP: moka in dodatek fosfatnega preparata; ZKM: zaklejena moka; ZKMP: ZKM in dodatek fosfatnega preparata

3 REZULTATI

Rezultati so pokazali, da so vzorci vsebovali med 69,7 % in 71,8 % vode, med 10,2 % in 12,1 % maščobe ter med 9,9 % in 11,9 % beljakovin. Najnižjo vsebnost vode (67,5 %) smo določili pri vzorcu ZKM z dodatkom pražene moke. Dodatki surovin in aditivov so vplivali na končno pH-vrednost mesnih emulzij, ki se je gibala med 6,02 in 6,39, a se med vzorci ni bistveno razlikovala. Prav tako nismo zaznali vpliva TG na pH vrednost. Različne recepture v posameznih sklopih so vplivale na razlike v barvnih parametrih končnih izdelkov. Vrednosti a^* pri vzorcih iz prvega in drugega sklopa (MP, ZKMP in ZKM) so se gibale med 3 in 6, vrednosti b^* med 16 in 20, vrednosti L^* pa med 70 in 79.

V prvem sklopu smo uporabili fosfatni preparat (za povečanje sposobnosti za vezanje vode in stabilnost; Young in sod., 2005; Lantto in sod., 2007), pri nekaterih vzorcih pa tudi toplotno neobdelano škrobno frakcijo rumenega fižola. Na podlagi rezultatov smo sklepali, da temperatura 68 °C, pri kateri smo kuhali mesne emulzije, ni bila dovolj visoka za zaklejenje škroba. Zato smo recepturo prilagodili in pripravili tudi vzorce, kjer smo škrobno frakcijo predhodno toplotno obdelali z vodo v razmerju 1 : 3 pri 80 °C z namenom zaklejitve prisotnega škroba. S tem smo želeli poleg izboljšanja teksture (slika 1) izboljšati tudi senzorične lastnosti mesnih emulzij (Roland in sod., 2017). Z analizo TPA smo določili več teksturnih parametrov, vendar so bile razlike med vzorci večinoma manjše. Največje razlike smo opazili pri trdoti in žvečljivosti. Rezultati so pokazali, da nam je uspelo pripraviti nekatere vzorce s trdoto in žvečljivostjo, primerljivo komercialnim izdelkom. Koncentracija TG in čas

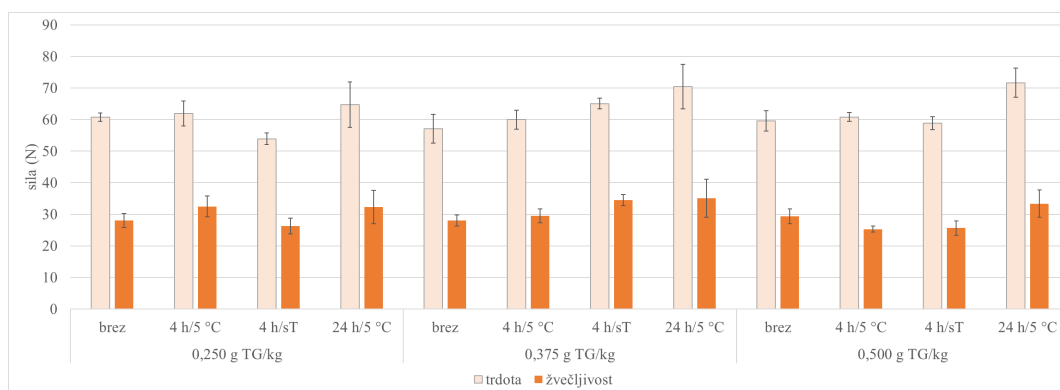
inkubacije sta pomembno vplivala na končne rezultate. Ugotovili smo, da v kombinaciji s fosfatnim preparatom TG deluje že v manjših koncentracijah (0,250 g/kg), če inkubacija traja 24 ur. Pri višjih koncentracijah (0,375 g/kg in 0,500 g/kg) pa je zadostovala že 4-urna inkubacija.



Slika 1: Prikaz teksturnih parametrov trdote in žvečljivosti vzorcev mesnih emulzij pripravljenih v prvem sklopu iz zaklejene moke in dodatka fosfatnega preparata

V drugem sklopu nas je zanimal vpliv odstranitve fosfatnega preparata na teksturne lastnosti mesnih emulzij. Dodatek TG je sicer izboljšal trdoto in žvečljivost, vendar ti parametri niso dosegli ravni komercialnih izdelkov. Najvišje vrednosti trdote in žvečljivosti smo izmerili pri vzorcih z dodatkom 0,375 g in 0,500 g TG/kg, v obeh primerih po 24-urni inkubaciji pri 5 °C (slika 2). Rezultati se razlikujejo od prvega sklopa, verjetno zaradi odsotnosti fosfatnega preparata. Ob kombinaciji TG in fosfatnega preparata smo ob krajši inkubaciji dosegli najvišje teksturne vrednosti, primerljive komercialnim izdelkom.

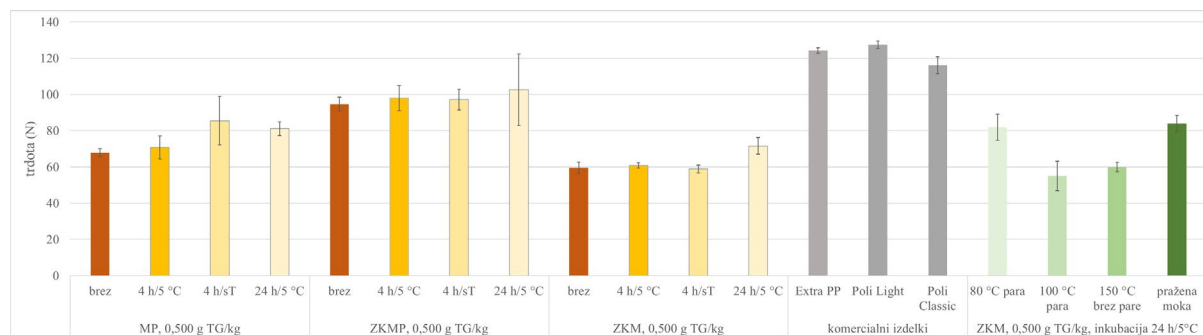
V drugem sklopu nas je zanimalo, kako odstranitev fosfatnega preparata vpliva na teksturne parametre mesnih emulzij. Z dodatkom TG smo uspeli izboljšati teksturne parametre trdote in žvečljivosti, vendar niso bili primerljivi s parametri komercialnih izdelkov. Najvišje vrednosti teksturnih parametrov trdote in žvečljivosti smo določili pri emulzijah z dodatkom 0,375 g in 0,500 g TG/kg, v obeh primerih po 24-urni inkubaciji pri 5 °C (slika 2). S tem se rezultati razlikujejo od prvega sklopa, kar je verjetno posledica fosfatnega preparata. Ob kombinaciji TG in fosfatnega preparata smo ob krajši inkubaciji pridobili najvišje izmerjene teksturne parametre trdote in žvečljivosti. Rezultati trdote in žvečljivosti teh vzorcev so bili od vseh pripravljenih vzorcev v vseh sklopih najbolj primerljivi komercialnim izdelkom.



Slika 2: Prikaz teksturnih parametrov trdote in žvečljivosti vzorcev mesnih emulzij, pripravljenih v drugem sklopu iz zaklejene moke

Zaradi vse večjega povpraševanja po izdelkih brez dodanih aditivov, smo v tretjem sklopu poskušali pripraviti tudi takšne vzorce. Med drugim smo uporabili višjo temperaturo za zaklepitev škroba ter dodali želatino za izboljšanje teksturnih parametrov. Nitritno sol smo zamenjali z navadno fino mleto jodirano morskjo soljo in

kalijevim kloridom, ki naj bi vplival na delovanje TG. V primerjavi z drugim sklopom smo uspeli izboljšati teksturne lastnosti in se približati vrednostim komercialnih izdelkov (slika 3).



Slika 3: Prikaz trdote vzorcev prvega in drugega sklopa (levo), treh komercialnih izdelkov (sredina) in trdote vzorcev tretjega sklopa z 0,500 g TG/kg (desno); MP: moka in dodatek fosfatnega preparata; ZKMP: zaklejena moka in dodatek fosfatnega preparata; ZKM: zaklejena moka)

Vzorci iz tretjega sklopa so dosegli višje vrednosti trdote kot tisti iz drugega sklopa. Sam dodatek TG ni bil dovolj za doseg texture, primerljive komercialnim izdelkom. Spremenjena receptura pa je očitno vplivala na izboljšano teksturo.

Stabilnost vzorcev mesnih emulzij se je gibala med 81 % in 100 %. Večinoma so slabšo stabilnost mesne emulzije odražale po 30-minutni toplotni obdelavi v vodni kopeli pri temperaturi 80 °C, ko so se pri nekaterih vzorcih pojavile večje izgube tekočine.

4 ZAKLJUČEK

Zaradi okoljskih in etičnih izzivov ter vse večjega povpraševanja po trajnostnih alternativah se vse pogostejše pojavlja potreba po inovacijah v mesnopredelovalni industriji. Rezultati so pokazali, da TG pozitivno vpliva na teksturne lastnosti, predvsem trdoto in žvečljivost emulzij, pri čemer sta ključna koncentracija encima in čas inkubacije. Najboljši rezultati, primerljivi komercialnim izdelkom, so bili doseženi z uporabo TG v kombinaciji s fosfati. V poskusih brez fosfatov je bilo za izboljšanje texture potrebnih več sprememb recepture, kot so predhodna toplotna obdelava škroba in dodatek fosfatnega preparata. Kljub temu pa so se tudi ti izdelki približali kakovosti komercialnih izdelkov. Z ustrezno kombinacijo tehnoloških postopkov in dodatkov je mogoče ustvariti mesne izdelke z znižano vsebnostjo mesa in izboljšano teksturo, kar je pomemben korak k trajnostnejši prehrani.

5 VIRI

- Akbari M., Razavi S. H., Kieliszek M. 2021. Recent advances in microbial transglutaminase biosynthesis and its application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 110: 458-469
- Huang M., Mehany T., Xie W., Liu X., Guo S., Peng X. 2022. Use of food carbohydrates towards the innovation of plant-based meat analogs. *Trends in Food Science & Technology*, 129: 155-163
- Lantto R., Puolanne E., Katina K., Niemistö M., Buchert J., Autio K. 2007. Effect of laccase and transglutaminase on the textural and water-binding properties of cooked chicken breast meat gels. *European Food Research and Technology*, 225: 75-83
- Li W., Shu C., Yan S., Shen Q. 2010. Characteristics of sixteen mung bean cultivars and their protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 1205-1211
- Roland W. S. U., Pouvreau L., Curran J., Velde F., Kok P. M. T. 2017. Flavor aspects of pulse ingredients. *Cereal Chemistry*, 94, 1: 58-65
- Sha L., Xiong Y. 2020. Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102: 51-61
- Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86: 196-213

Young Q. A., Zhang S. X., Farouk M. M., Podmore C. 2005. Effects of pH adjustment with phosphates on attributes and functionalities of normal and high pH beef. *Meat Science*, 70: 133-139

PRIMERJAVA PREHRANJEVALNIH NAVAD OTROK IN MLADOSTNIKOV V SLOVENIJI IN VOJVODINI

Sabina HADALIN¹, Andrej OVCA², Zita ŠEREŠ³ in Sonja SMOLE MOŽINA⁴

Povzetek: Debelost in prekomerna telesna masa predstavljata velik javnozdravstveni problem. Prekomerni telesni masi se je v precejšni meri možno izogniti s preventivnimi ukrepi (ustrezno prehrano in življenjskim slogom). Zato smo se odločili raziskati, kako nanjo vplivajo različni dejavniki. V raziskavo je bilo vključenih 1483 otrok in mladostnikov iz slovenskih (657) in vojvodinskih (826) šol, 784 osnovnošolcev in 699 srednješolcev. Z različnimi statističnimi analizami anketnih odgovorov smo ugotovili, da mladostniki pogosto izpuščajo obroke, najpogosteje zajtrk. Kot dejavniki vpliva na indeks telesne mase (ITM) se tako poleg pogostosti uživanja zajtrka nakazujejo še spol, starost in regija. Vpliva ostalih dejavnikov (pogostosti uživanja hitre hrane na eni in sadja in zelenjave na drugi strani ter kraja bivanja) na ITM nismo potrdili. Zato je ta prispevek posvečen osvetlitvi pogostosti uživanja dnevnih obrokov, še posebej pomena zajtrka, in ugotovljenega ITM pri anketiranih slovenskih in vojvodinskih osnovnošolcih in srednješolcih. Na podlagi raziskave zaključujemo, da razlike med regijama obstajajo, ustrezna prehrana in življenjski slog pa vplivata na ITM otrok in mladostnikov. Zato je ključno, da se doma, v šoli in javnosti posvečamo izobraževanju in osveščanju mladine o pomenu zdrave prehrane, saj bodo priučene navade mladih vplivale na njihovo zdravje tudi kasneje v življenju.

Ključne besede: prehranjevalne navade, otroci in mladostniki, debelost, prekomerna telesna teža, indeks telesne mase (ITM), dnevni obroki, zajtrk

COMPARISON OF DIETARY HABITS AMONG CHILDREN AND ADOLESCENTS IN SLOVENIA AND VOJVODINA

Abstract: Obesity and overweight are two of fastest growing public health problems. Both can be avoided to a large extent with preventive measures (balanced nutrition and healthy lifestyle). For this reason we decided to explore how different factors affect them. The survey included 1483 children and adolescents from Slovenian (657) and Vojvodina (826) schools, 784 primary school students and 699 secondary school students. Through different statistical analyses of survey responses, we found out, that adolescents often skip meals (especially breakfast). Factors supposed to have the impact on Body Mass Index (BMI) include gender, age, region, beside frequency of breakfast consumption. The influence of other factors (frequency of fast food, fruits and vegetables consumption and place of residence) on BMI was not confirmed. Therefore, this article is dedicated to highlight the frequency of daily meal consumption, especially breakfast, and the determined BMI among surveyed Slovenian and Vojvodina primary and secondary school students. Based on our research, we conclude that there are differences between both regions and that with proper nutrition and lifestyle, it is possible to positively influence BMI of children and adolescents. Therefore, it is crucial to educate and raise awareness about the importance of healthy nutrition and lifestyle, at home, at school, and in public, to have a positive impact on health of young people also later in their life.

Keywords: dietary habits, children and adolescents, obesity, overweight, body mass index (BMI), daily meals, breakfast

¹ MSc preh., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sabina.hadalin@gmail.com

² doc. dr., Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, e-mail: andrej.ovca@zf.uni-lj.si

³ prof. dr., Univerza v Novem Sadu, Tehnološka fakulteta, Bulevar Cara Lazara, Novi Sad, Srbija e-mail: zitas@tf.uns.ac.rs

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

1 UVOD

Večina svetovnega prebivalstva živi v državah, kjer za posledicami prekomerne telesne mase umre več ljudi kot zaradi podhranjenosti. Debelost in prekomerna telesna masa postajata vse večji problem. Globalno gledano se je debelost od leta 1975 potrojila, zato lahko govorimo tudi o epidemiji debelosti. Zaskrbljujoči so tudi podatki o debelosti pri otrocih. Leta 1975 je delež otrok in mladostnikov s prekomerno telesno maso znašal 4 %, v letu 2016 pa že 18 %. V enakem obdobju pa se je tudi delež debelih otrok in mladostnikov povečal iz 1 % na 7 %. Pri tem je otroška debelost še posebej problematična s stališča tveganja za pojav številnih zdravstvenih problemov v kasnejšem življenju (WHO, 2020a). Na pojavnost prekomerne teže in debelosti pa lahko vplivajo številni dejavniki, vključno s prehranjevalnimi navadami (število dnevnih obrokov, prehranjevanje doma ali izven doma, uživanje tradicionalne ali hitre prehrane itd.).

2 MATERIAL IN METODE

V okviru sodelovanja med visokošolskimi institucijami v Sloveniji in avtonomni pokrajini Vojvodina (APV) v Srbiji smo izvedli primerjalno raziskavo, katere glavni cilj je bil z uporabo v ta namen sestavljenega vprašalnika pridobiti vpogled v prehranjevalne navade otrok oz. mladostnikov različnih starosti iz dveh geografskih območij. V APV so bili v anketiranje vključeni učenci petih in sedmih razredov osnovnih šol, ter dijaki tretjih letnikov srednjih šol. V Sloveniji pa so bili v anketiranje vključeni osnovnošolski učenci enake starosti, torej šestih in osmih razredov osnovnih šol ter dijaki tretjih letnikov srednjih šol v mestnem, primestnem in podeželskem okolju. Pred izvedbo anketiranja je bil vprašalnik testiran na manjši skupini osnovnošolcev. V Sloveniji smo testiranje izvedli v dveh razredih osnovnošolcev. Vključenih je bilo 26 šestošolcev in 15 osmošolcev Osnovne šole Vič med njihovo redno šolsko razredno uro. Pri tem sta sodelovala vsaj eden izmed pripravljavcev ankete in razredni učitelj. Namen tega testiranja je bil preveritev razumevanja vprašanj in ponujenih odgovorov ter določitev optimalnega časa za izpolnjevanje celotnega vprašalnika za posamezne starostne skupine anketiranih otrok ter mladostnikov.

V analizo smo skupno zajeli 1483 ustrezno izpolnjenih vprašalnikov otrok in mladostnikov, od tega 657 z območja Slovenije in 826 z območja APV, skupno 768 izpolnjenih s strani osnovnošolcev, 699 s strani srednješolcev, pri 16 vprašalnikih pa ni bilo ustreznega podatka. Osnovni namen dela je bila analiza razlik v prehranjevalnih navadah otrok in mladostnikov, ki prihajajo iz različnih geografskih območij in kulturnih okolij. Analizirali smo povezave med demografskimi spremenljivkami (spol, starost, kraj bivanja), indeksom telesne mase (ITM) in prehranjevalnimi navadami (število dnevnih obrokov). Pri tem smo sledili dvema delovnim hipotezama in sicer da mladostniki pogosto izpuščajo dnevne obroke, najpogosteje izpuščeni obrok je zajtrk, ter da je ITM povezan s pogostostjo uživanja posameznih obrokov in demografskimi spremenljivkami - spolom, starostjo in krajem bivanja anketirancev.

Na podlagi odgovorov anketirancev smo izračunali njihov ITM po naslednji formuli:

$$ITM = \frac{\text{telesna masa (kg)}}{(\text{telesna višina (m)})^2} \quad \dots (1)$$

Zbrane podatke smo analizirali s programom za kvantitativno analizo SPSS (Statistical Package for Social Sciences, verzija 22, IBM, Armonk, ZDA). Za raziskovanje soodvisnosti med spremenljivkami smo uporabili sledeče statistične teste: Pearsonov koeficient korelacije, hi-kvadrat test, t-test in ANOVA. Izbira posameznega testa je bila odvisna od tipa vprašanja. Za statistično pomembno razliko smo uporabili p-vrednost, manjšo od 0,05.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 OCENA PREHRANSKEGA STATUSA

Anketirance smo s pomočjo rastijskih krivulj (WHO, 2007) razporedili v štiri razrede glede na njihov prehranski status. V prvi razred smo uvrstili osebe s prenizko telesno maso, v drugi razred tiste z normalno telesno maso, v tretji razred osebe s prekomerno telesno maso in v četrti razred tiste, ki spadajo v kategorijo debelosti (pregl 1).

Preglednica 1: Razvrstitev anketirancev glede na demografske podatke (spol, starost, kraj bivanja) in prehranski status

	prenizka telesna masa	normalna telesna masa	prekomerna telesna masa	debelost	statistični test	
geografska regija					t	
SLO	2,4	77,7	15,5	4,3	-2,713	0,007
APV	2,5	71,5	18,7	7,3		
spol					t	
deklice	2,4	67,3	21,8	8,5	5,242	0,000
dečki	2,6	79,5	13,9	4,1		
starost					F	
<12 let	3,4	67,4	20,5	8,7	5,643	0,004
13-15 let	2,6	72,2	19,0	6,3		
>16 let	1,9	78,9	14,7	4,5		
kraj bivanja					F	
vas	2,3	76,9	15,6	5,2	1,531	0,127
predmestje	2,2	74,9	16,6	6,3		
mesto	2,8	71,2	18,9	7,0		

Legenda: t in F vrednost predstavljata statistično značilnost rezultatov testa. t: rezultat t testa; F: rezultat testa ANOVA

S prekomerno telesno maso ali z debelostjo se je soočal kar velik delež preiskovane populacije. Skupno je bilo glede na podatke WHO pretežkih 23,5 % otrok in mladostnikov iz preiskovane populacije. Nekoliko več pretežkih posameznikov je med otroci in mladostniki v APV (26 %), kot med njihovimi slovenskimi vrstniki (19,8 %). Pri deklicah je prevelika telesna masa pogostejša (30,3 %) kot pri dečkih (18,0 %). Delež prekomerno težkih otrok in mladostnikov je sicer padal s starostjo. V najmlajši skupini (<12 let) je bilo pretežkih 29,2 % otrok in mladostnikov, v srednji skupini (13 – 15 let) 25,3 % anketirancev, v najstarejši skupini (>16 let) pa je bilo pretežkih 19,2 % (pregl 1). Razlike so se pojavile tudi glede na okolje bivanja. Najmanj pretežkih posameznikov je prihajalo iz vaškega okolja (20,8 %), nekoliko več iz primestnega okolja (22,9 %), največ pa iz mestnega okolja (25,9 %).

3.2 POGOSTOST UŽIVANJA DNEVNIH OBROKOV

Z vprašalnikom smo preverjali, kakšno število dnevnih obrokov zaužijejo otroci in mladostniki. Predvideli smo, da bodo izmed vseh obrokov najpogostejše izpustili zajtrk, ne glede na spol, starost, državo ali okolje bivanja (Pregl. 2).

Preglednica 2: Pogostost uživanja posameznih dnevnih obrokov glede na geografsko regijo

obrok	geografska regija	nikoli	redko	1x do 2x tedensko	3x do 4x tedensko	5x do 6x tedensko	vsak dan
zajtrk	SLO	9,3	14,1	20,6	11,9	9,6	34,4
	APV	9,4	7,5	10,2	12,5	14,7	45,6
	skupaj	9,3	10,4	14,8	12,3	12,5	40,7
kosilo	SLO	0,6	1,3	2,3	4,8	9,7	81,3
	APV	0,1	6,2	3,3	4,3	5,5	80,6
	skupaj	0,3	4,0	2,9	4,5	7,3	80,9
večerja	SLO	2,0	9,2	6,9	11,6	16,6	53,7
	APV	3,4	7,8	3,3	8,5	16,1	60,8
	skupaj	2,8	8,4	4,9	9,9	16,3	57,7

Rezultati raziskave pa nakazujejo tudi zanimivo ugotovitev, da je pogostost uživanja zajtrka povezana s pojavnostjo prekomerne telesne mase. Med otroki in mladostniki, ki so pogostejše zajtrkovali, se je tako pojavil manjši delež tistih s prekomerno telesno težo, kot med tistimi, ki so zajtrk uživali redkeje. Kakšen delež otrok in mladostnikov lahko glede na pogostost uživanja zajtrka razvrstimo v posamezni prehranski razred, pa je razvidno iz Preglednice 3.

Preglednica 3: Pogostost uživanja zajtrka in prehranski status anketirancev

pogostost uživanja zajtrka	geografska regija	prenizka telesna masa	normalna telesna masa	prekomerna telesna masa	debelost
nikoli	SLO	0,0	73,1	23,1	3,8
	APV	2,6	68,8	19,5	9,1
	skupaj	1,6	70,5	20,9	7,0
redko	SLO	2,4	76,8	15,9	4,9
	APV	4,9	67,2	23,0	4,9
	skupaj	3,5	72,7	18,9	4,9
1x do 2x tedensko	SLO	0,8	76,2	16,4	6,6
	APV	0,0	75,0	22,6	2,4
	skupaj	0,5	75,7	18,9	4,9
3x do 4x tedensko	SLO	2,9	78,6	18,6	0,0
	APV	1,0	71,8	21,4	5,8
	skupaj	1,7	74,6	20,2	3,5
5x do 6x tedensko	SLO	1,8	80,7	14,0	3,5
	APV	0,0	76,0	16,5	7,4
	skupaj	0,6	77,5	15,7	6,2
vsak dan	SLO	4,1	79,0	12,3	4,6
	APV	4,0	70,7	16,5	8,8
	skupaj	4,0	73,5	15,1	7,4

V raziskavi smo potrdili, da otroci in mladostniki pogosto izpuščajo obroke, pri čemer je najpogostejše izpuščen obrok zajtrk, najmanjkrat izpuščen obrok pa kosilo (pregl. 2). Enak pojav smo zaznali pri celotni populaciji, ne glede na to, koliko stari so bili otroci in mladostniki in iz kakšnega okolja so prihajali. Rezultati kažejo, da zajtrk pogostejše vsakodnevno uživajo otroci in mladostniki v APV (45,6 %) kot njihovi vrstniki v Sloveniji (34,4 %). Pogostost uživanja zajtrka s starostjo pada. Med osnovnošolci jih je tako vsakodnevno zajtrkovalo 47,5 %, med srednješolci pa le 33,6 %. Manjšo pogostost uživanja zajtrka v kasnejših letih bi lahko pripisali vse manjšemu vplivu staršev na prehranjevalne navade njihovih otrok, pritisku okolice (težnja po zmanjševanju telesne mase) in drugim dejavnikom (Pedersen in sod., 2015). Tudi v drugih raziskavah (WHO, 2020b) so prav tako ugotovili, da delež otrok, ki vsakodnevno zajtrkujejo, z leti pada. Od leta 2014, ko je bila opravljena raziskava WHO (Z zdravjem povezana vedenja v šolskem obdobju), je delež posameznikov, ki vsakodnevno zajtrkujejo, padel v več kot polovici sodelujočih držav (v povprečju za 5 %). V tej raziskavi so tudi ugotovili, da so slovenski otroci, ki vsakodnevno uživajo zajtrk, na samem repu sodelujočih držav. Za Slovenijo je sicer opazen pozitiven trend, saj se je redno uživanje zajtrka pri šoloobveznih otrocih med šolskim tednom v obdobju 2002-2018 povečalo (Jeriček Klanšček in sod., 2019).

Rezultati raziskave pa nakazujejo tudi pomembno ugotovitev, da imajo otroci in mladostniki, ki pogosto ali redno uživajo zajtrk, manjše tveganje za pojav prekomerne telesne mase in debelosti oz. imajo nekoliko manjši povprečni ITM kot otroci in mladostniki, ki nikoli ali redko uživajo zajtrk (pregl. 3). Vendar so razlike majhne, statistično značilnost teh rezultatov pa smo lahko pokazali le pri slovenskem, ne pa tudi pri vojvodinskem podvzorcju anketirancev. V nekaterih drugih velikih nacionalnih raziskavah, ki so zajele podatke skoraj 10.000 adolescentov, so potrdili zvezo med opuščanjem zajtrka in povečanjem ITM pri anketirancih med dvema obdobjema odrasčanja (med 11.-21. ter 18.-27. letom starosti (Niemeier in sod., 2006).

4 ZAKLJUČEK

Z raziskavo smo potrdili, da otroci in mladostniki pogosto izpuščajo obroke in da je najpogostejše izpuščen obrok zajtrk. Pri tem smo ugotovili statistično značilno razliko med preiskovanima regijama. Vsakodnevno zajtrkuje le 45,6 % otrok in mladostnikov v APV, v Sloveniji pa je ta delež še manjši, le 34,4 %. V splošnem vsaj petkrat tedensko zajtrkuje le dobra polovica otrok in mladostnikov, v APV je ta delež med anketiranci znašal 63,3 %, med slovenskimi pa le 44,0 %.

Rezultati nakazujejo vpliv spola (dečki so imeli v vseh skupinah večji ITM), starosti (z večjo starostjo otrok in mladostnikov se je povečeval delež tistih z normalno telesno maso in zmanjševal delež prekomerno hranjenih), regije (slovenski otroci in mladostniki so imeli v povprečju večji ITM od vojvodinskih vrstnikov) in pogostosti uživanja zajtrka na ITM (anketiranci, ki so pogosteje uživali zajtrk, so imeli manjši povprečni ITM). Pri tem je potrebno omeniti tudi, da so otroci in mladostniki v APV pogosteje zajtrkovali, kot njihovi vrstniki v Sloveniji, vendar pa so imeli vojvodinski otroci in mladostniki kljub temu v povprečju večji ITM. To bi bila lahko posledica tega, da ni pomembno samo kako pogosto uživamo nek obrok, temveč še številni drugi dejavniki – katera živila izberemo, kakšno količino hrane pojemo, vpliv ostalih obrokov (količine in kakovosti) ter splošnega življenjskega sloga.

K problemu slabih prehranjevalnih navad in posledično povečanega odstotka posameznikov s prekomerno telesno težo je potrebno pristopati celostno, začnemo pa lahko oz. moramo že v prvih letih življenja, saj se številnih navad priučimo že v domačem okolju, vpliv na posameznika pa imajo praktično v vseh nadaljnjih fazah njegovega življenja. Z dodatnim šolanjem jih lahko zgolj še izboljšamo. Če pa izobrazimo mlado generacijo, pa s tem lahko dobro poskrbimo za zdravje tudi prihodnjih generacij, saj bodo ti posamezniki svoje znanje lahko prenesli tudi na svoje potomce.

5 ZAHVALA

Raziskava je nastala s pomočjo bilateralnega projekta med Slovenijo in Srbijo ter sodelovanja Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in Tehnološke fakultete Univerze v Novem Sadu. Avtorji se zahvaljujemo številnim sodelavcem, študentom in učiteljem, učencem in njihovim staršem, ki so pripomogli k izvedbi anket na osnovnih in srednjih šolah Slovenije in APV.

6 VIRI

- Jeriček Klanšček H., Roškar M., Drev A., Pucelj V., Koprivnikar H., Zupanič T., Korošec A. 2019. Z zdravjem povezana vedenja v šolskem obdobju med mladostniki v Sloveniji. Izsledki mednarodne raziskave HBSC, 2018. Ljubljana, Nacionalni inštitut za javno zdravje: 107 str.
- Niemeier H. M., Raynor H. A., Lloyd-Richardson E. E., Rogers M. L., Wing R. R. 2006. Fast food consumption and breakfast skipping: Predictors of weight gain from adolescence to adulthood in a nationally representative sample. *Journal of Adolescent Health*, 39: 842-849
- Pedersen S., Grønhøj A., Thøgersen J. 2015. Following family or friends. Social norms in adolescent healthy eating. *Appetite*, 86:54–60
- WHO. 2007. Growth reference 5-19 years. Geneva, World health organisation: 1 str. https://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ (15. mar. 2023)
- WHO. 2016. Growing up unequal: gender and socioeconomic differences in young people's health and well-being. Health behaviour in school-aged children (HBSC) study: International report from the 2013/2014 survey. Copenhagen, WHO Regional office for Europe: 292 str.
- WHO. 2020a. Fact sheet on obesity and overweight. Geneva, World Health Organisation: 1 str. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (30. mar. 2023)
- WHO. 2020b. Spotlight on adolescent health and well-being. Findings from the 2017/2018 Health behaviour in school-aged children (HBSC) survey in Europe and Canada: International report. Volume 2. key data. Copenhagen, WHO Regional office for Europe: 144 str.

OCENA MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI IN SENZORIČNE KAKOVOSTI ŽITNIH IZDELKOV ZA ZAJTRK PO PRETEKU ROKA UPORABNOSTI

Kaja IVANC¹, Mojca KOROŠEC², Lea DEMŠAR³ in Barbara JERŠEK⁴

Povzetek: Namen raziskave je bil oceniti mikrobiološko varnost in senzorično kakovost desetih različnih žitnih izdelkov za zajtrk po preteku roka minimalne trajnosti. Analizirali smo kosmiče, granole, kekse in ovsene kaše v petih časovnih obdobjih – od polovice roka uporabe do 60 % po izteku. Mikrobiološke analize (kvalitativne in kvantitativne) so vključevale določanje patogenih bakterij (bakterije rodu *Salmonella*, bakterije vrst *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*) ter plesni in kvasovke. Noben od testiranih vzorcev ni presegal mejnih vrednosti, kar potrjuje mikrobiološko varnost testiranih izdelkov tudi po preteku roka. Senzorična kakovost se je s časom zmanjševala, najhitreje pri granolah in keksih, kjer so se pojavili vonj po žarkem, kartonu in zatohlosti. Ovsene kaše so ohranile sprejemljivo kakovost najdlje v primerjavi z ostalimi vzorci. Vsi vzorci so imeli aktivnost vode (a_w) pod 0,6, kar je pod mejo za rast mikroorganizmov in pojasnjuje mikrobiološko varnost teh izdelkov. Raziskava je pokazala, da so testirani žitni izdelki mikrobiološko varni tudi po preteku roka minimalne trajnosti, vendar se senzorična kakovost nekaterih izdelkov, zlasti tistih z večjo vsebnostjo maščob in kompleksnejšo sestavo, občutno poslabša.

Ključne besede: žitni izdelki za zajtrk, rok uporabe, mikrobiološka varnost, senzorična kakovost, a_w , pH

ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL SAFETY AND SENSORY QUALITY OF BREAKFAST CEREAL PRODUCTS AFTER THEIR SHELF LIFE

Abstract: The aim of this study was to assess the microbiological safety and sensory quality of ten different breakfast cereal products after the expiration of their minimum durability date. The analysis included various flakes, granolas, biscuits, and oat porridges, examined at five time points ranging from half of the declared shelf life to 60% beyond its expiration. Microbiological testing, both qualitative and quantitative, covered key foodborne pathogens (*Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*) as well as yeasts and moulds. None of the samples exceeded the prescribed microbiological limits, confirming their safety even after shelf-life expiration. Sensory quality declined over time, most rapidly in granolas and biscuits, where off-flavours such as rancid, cardboard-like, and musty notes were detected. Oat porridges maintained acceptable sensory characteristics for the longest period. All samples had water activity (a_w) values below 0.6, which is under the threshold for microbial growth, thereby supporting the observed microbiological stability. The findings indicate that the tested breakfast cereals remain microbiologically safe beyond their labelled shelf life; however, sensory deterioration is evident in some products, particularly those with higher fat content and more complex formulations.

Keywords: breakfast cereal products, shelf life, microbiological safety, sensory quality, a_w , pH-value

¹ mag. ing. prehr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: kaja.ivanc@gmail.com

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

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

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

1 UVOD

Prehranska varnost je eden najpomembnejših izzivov, saj je približno 11 % svetovnega prebivalstva podhranjenega, hkrati se 1/3 proizvedene hrane zavrže zaradi različnih vzrokov tekom celotne agroživilske verige (Kasza in sod., 2019). Ena od strategij za trajnostno ravnanje s hrano je obveščanje potrošnika o primernosti za uživanje z ustreznimi podatki na embalaži živila, kot je datum minimalne trajnosti. To je datum, do katerega živilo ob pravilnem shranjevanju ohrani svoje značilne lastnosti. Po preteku datuma, proizvajalec izdelka ne jamči več, da bo le-ta ohranil enako kakovost. Potrebno je vzpostaviti ravnovesje med živilskimi odpadki in varnostjo hrane. Za to so potrebne študije, ki bi zagotavljale podatke o kakovosti živil, ki se bližajo koncu minimalnega roka trajanja (Trzaskowska in sod., 2020).

Pri preučevanju stabilnosti izdelkov po preteku roka minimalne trajnosti je treba najprej upoštevati vidike mikrobne in kemijske varnosti in šele nato senzorično kakovost izdelka. Mikrobiološka stabilnost in varnost živil temelji na kombinaciji več dejavnikov, ki mikroorganizmom predstavljajo ovire za rast. Ustrezne senzorične lastnosti izdelkov so ključnega pomena. Videz, vonj, okus, aroma in tekstura vplivajo na sprejemljivost živila pri potrošniku (Zielińska in sod., 2020).

2 MATERIAL IN METODE

Preverjali smo mikrobiološko varnost in senzorično kakovost desetih žitnih izdelkov za zajtrk znotraj roka in po preteku roka uporabnosti. V analizo so bile vključene 3 vrste granol, proseni keksi, 3 vrste kosmičev ter 3 ovsene kaše. Testirani žitni izdelki za zajtrk oz. vzorci so bili po Smernicah za mikrobiološko varnost živil, ki so namenjena končnemu potrošniku (Rupel in sod., 2019), glede na mikrobiološke kriterije razvrščeni v kategorijo žita, mlevski, pekovski in slaščičarski izdelki ter testenine. Znotraj te kategorije smo prosene kekse uvrstili v skupino 4.2.1 (torte, peciva, deserti, pite, krofi, kolači in keksi), vsi ostali vzorci (granole, kosmiče in ovsene kaše) pa spadajo v skupino pripravljenih izdelkov iz žit (4.1.2). Poleg parametrov, ki jih podajajo smernice, smo v sklopu magistrske naloge (Ivanc, 2024) spremljali tudi število anaerobnih in aerobnih mezofilnih bakterij ter število aerobnih in anaerobnih sporogenih bakterij.

Najprej smo opravili mikrobiološke analize, pri katerih smo preverili, če so vzorci varni za uživanje. Kriterije in meje za posamezne mikroorganizme smo povzeli po Smernicah za mikrobiološko varnost živil, ki so namenjena končnemu potrošniku (Rupel in sod., 2019). Pri prvi mikrobiološki analizi (znotraj roka uporabnosti) smo vzorcem določali vse mikrobiološke varnostne parametre po smernicah. V primeru, da patogenih bakterij v tem času ni bilo prisotnih, nadaljnje analize na prisotnost in število le teh nismo več testirali. Ko so bile patogene bakterije prisotne, smo njihovo število spremljali pri naslednjih analizah.

Za tem smo posameznemu vzorcu izmerili vrednost pH in vodno aktivnost (a_w). Vzorec se je odvzelo in analiziralo takoj po odprtju embalaže živila. Senzorično kakovost vzorcev smo določali s strokovnim panelom. Kakovost senzoričnih lastnosti vzorcev smo vrednotili s sistemom 20 točk in opisno kvalitativno metodo CATA oz. »označi vse, kar ustreza«. Pri vzorcih, kjer je bila mikrobiološka varnost ali senzorična kakovost nesprejemljiva, nadaljnjih analiz nismo opravili.

2.1 MIKROBIOLOŠKE ANALIZE

Mikrobiološke analize so vključevale pripravo matične raztopine. Na začetku smo najprej aseptično premešali po dve pakiranji živila skupaj. S sterilno žlico smo odvzeli 10 g žitnega izdelka in ga prenesli v sterilno vrečko ter dodali 90 mL topila. Kot topilo smo uporabljali sterilno fiziološko raztopino. Vzorec smo 1 minuto homogenizirali z gnetilnikom pri srednji hitrosti. Kvalitativna analiza bakterij rodu *Salmonella* je bila izvedena po standardu ISO 6579 (2002) z uporabo predhodnega obogatitvenega (BPW) ter selektivnih gojišč (RVS, MKTTn, SS, SCA). Kvantitativne analize so potekale po ustreznih ISO standardih: *B. cereus* (ISO 7932 (2004)) na gojišču BC, *E. coli* na gojišču TBX, koagulaza pozitivni stafilokoki in *S. aureus* (SIST EN ISO 6888-2 (1999)) na gojišču BP, *Cl. perfringens* na gojišču SPS v anaerobnih razmerah. Skupno število mezofilnih bakterij (aerobnih in anaerobnih) ter sporogenih bakterij je bilo določeno z inkubacijo na gojišču NA, ob segrevanju matične raztopine pri 80 °C za

sporogene oblike. Kvasovke in plesni smo določali na gojišču DRBC, z inkubacijo 3–5 dni pri 25 °C. Vse analize so bile izvedene v skladu z načeli aseptične tehnike in ustreznimi standardi.

2.2 SENZORIČNA ANALIZA

Senzorične analize je izvedel strokovni senzorični panel. Z opisno senzorično analizo z metodo CATA (ang. Check-all-that-apply) oz. »Označi vse, kar ustreza« smo podrobneje identificirali senzorične spremembe, ki so nastale pri posameznih izdelkih tekom staranja vzorcev. Opisniki so se nanašali na videz, vonj, okus in aromo in teksturo. Nato smo statistično preverili, ali se pogostost določenega opisnika spreminja glede na različne čase testiranja pri 5 % tveganju. Oceno kakovosti senzoričnih lastnosti oz. kako se le-te spreminjajo skozi rok uporabe smo ocenjevali s sistemom 20 točk. Vzorec je bil ocenjen kot senzorično nesprejemljiv, če je pri ocenjevanju dobil skupno manj kot 10 točk od možnih 20 točk ali če je bila ocena posamezne lastnosti (npr. ocena vonja) nižja za več kot polovico.

2.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE

Pri vzorcih smo spremljali vrednost pH posameznega vzorca v matični raztopini. Meritve smo opravili s pH-metrom, ki smo ga predhodno umerili s pufri po navodilih proizvajalca. Vsakemu vzorcu smo merili tudi termodinamsko aktivnost vode (a_w) in spremljali, če se slednje vrednosti tekom roka uporabnosti razlikujejo.

3 REZULTATI

3.1 OCENA MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI ŽITNIH IZDELKOV ZA ZAJTRK PO PRETEKU ROKA UPORABNOSTI

Ob prvi analizi smo pri posameznem vzorcu preverili prisotnost bakterij rodu *Salmonella*, koagulaza pozitivne stafilokoke in *Staph. aureus*, bakterije vrst *Cl. perfringens* in *E. coli*. Analize so pokazale odsotnost bakterij rodu *Salmonella* pri vseh vzorcih, medtem ko je bilo število ostalih bakterij pod mejo detekcije (<10 CFU/g). Tekom shranjevanja vzorcev znotraj roka uporabe in po njem smo glede na smernice pri vseh vzorcih spremljali število bakterij vrste *B. cereus*. Ob prvi analizi smo potrdili prisotnost le-teh v večini vzorcev, zato smo njihovo število spremljali še naprej. Število bakterij vrste *B. cereus* je bilo tekom analiz znotraj predpisanih vrednosti in se ni spreminjalo. Enako velja za plesni in kvasovke, ki so bile pri vzorcih sicer prisotne, ampak število le-teh ni preseglo mejne vrednosti. Poleg predpisanih parametrov smo spremljali tudi skupno število anaerobnih in aerobnih mezofilnih bakterij ter skupno število anaerobnih in aerobnih spороgenih bakterij. Njihovo število pri posameznem žitnem vzorcu med skladiščenjem ni naraščalo ($p > 0,05$).

Število mikroorganizmov znotraj roka uporabnosti in po preteku roka minimalne trajnosti je bilo pri vseh testiranih vzorcih enako in znotraj predpisanih kriterijev. To pomeni, da čas shranjevanja ni vplival na povečanje števila mikroorganizmov ($p > 0,05$), kar pomeni, da so testirana živila varna za uživanje tudi po pretečenem roku minimalne trajnosti.

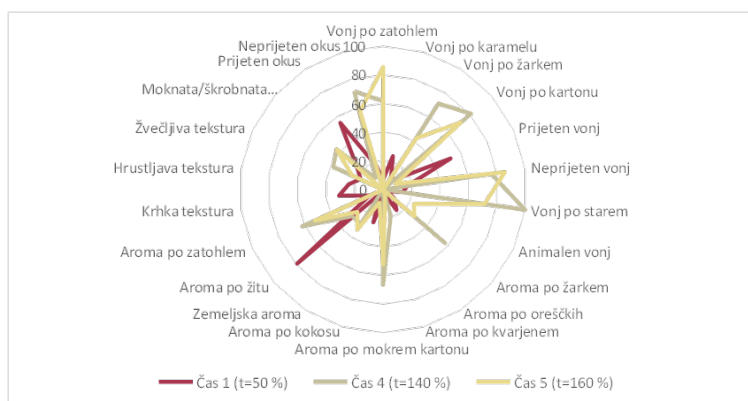
3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE

Vodna aktivnost vzorcev se med skladiščenjem izdelka ni statistično značilno razlikovala ($p > 0,05$). To pomeni, da je vrednost a_w s časom skladiščenja izdelkov ostala nespremenjena in se je za analizirane žitne izdelke gibala med 0,3 in 0,5. Vodna aktivnost vpliva na mikrobiološko varnost živil. Višja vrednost a_w predstavlja večje tveganje za kvar živila. Pod a_w 0,6 – 0,7 večina mikroorganizmov ne raste. Patogene bakterije ne morejo rasti pod aktivnostjo vode 0,85, medtem ko so kvasovke in plesni bolje prilagojene na nižjo aktivnost vode in običajno ne rastejo pod 0,62 (Rahman in Labuza, 2007). Iz rezultatov mikrobioloških analiz je razvidno, da se število mikroorganizmov tekom shranjevanja izdelkov za zajtrk, ni spreminjalo. Razlog za to je majhna vrednost a_w , ki je bila pri testiranih vzorcih pod 0,6. Vodna aktivnost je eden od varnostnih parametrov, zaradi katerega so žitni izdelki za zajtrk varni za uživanje tudi po preteku roka minimalne trajnosti.

Rezultati meritev pH-vrednosti glede na čas so pokazali, da se vrednosti pH v posameznem izdelku niso spreminjale ($p > 0,05$). Vsebnost vlage v žitih in temperatura shranjevanja lahko povzročata spremembe v pH-vrednosti žit (Rehman, 2006). Glede na to, da se aktivnost vode po naših meritvah ni spreminjala, s tem sovpadajo tudi rezultati pH-vrednosti, ki je med skladiščenjem ostala enaka. vrednost pH med žitnimi izdelki za zajtrk se je razlikovala, njena vrednost je bila med 5,5 – 6,3, kar je sicer optimalno območje za rast mnogih mikroorganizmov, kar pa jim pri dotičnih vzorcih onemogoča nizka vrednost a_w .

3.3 OCENA SENZORIČNE KAKOVOSTI ŽITNIH IZDELKOV ZA ZAJTRK PO PRETEKU ROKA UPORABNOSTI

Na sliki 1 je prikazana pogostost izbranega opisnika z metodo CATA za vse vzorce skupaj, ob času 1, 4 in 5 v procentih. Prikazani so le opisniki, katerih pogostost se je skozi čas značilno razlikovala ($p \leq 0,05$). Iz slike 1 je razvidno, kako se je senzorična kakovost skozi zaznane opisnike spreminjala v času 4 in 5 v primerjavi s časom 1. Prijeten vonj in vonj po karamelu v času 4 in 5 izgine, nadomesti ga vonj po zatohlem, vonj po žarkem, vonj po kartonu, neprijeten vonj in vonj po starem. Aroma po oreščkih, kokosu in žitu zamenja aroma po žarkem, aroma po mokrem kartonu ter aroma po zatohlem. Krhko in hrustljivo teksturo zamenjata žvečljiva in moknata tekstura, prijeten okus pa zamenja opisnik neprijeten okus.



Slika 1: Rezultati opisne analize z metodo CATA za vse vzorce skupaj v času 1, 4 in 5 (hi-kvadrat, $p \leq 0,05$).

Kakovost je odvisna od mnogih spremenljivk, ki upoštevajo intrinzične značilnosti izdelka, kot so sestava izdelka, pH-vrednost, aktivnost vode, prisotnost katalizatorjev, lastnosti in zmogljivosti embalaže ter skladiščenje – temperatura, izpostavljenost svetlobi, relativna vlažnost, dostopnost kisika (Manzocco in sod., 2020).

Na senzorično kakovost žitnih izdelkov za zajtrk vpliva mnogo dejavnikov. Določeni vzorci so bili že ob prvi senzorični analizi slabše kakovosti. Na to je najverjetneje vplivala slabša kakovost vhodnih surovin pri proizvodnji izdelkov.

V preglednici 1 je prikazana mikrobiološka varnost posameznega izdelka in senzorična sprejemljivost glede na čas. Znotraj roka uporabnosti (t_{50} %) in ob zaključku roka minimalne trajnosti (t_{100} %) je bilo testiranih 10 vzorcev. Pri vseh so bili mikrobiološki parametri znotraj kriterijev in ustrezne senzorične kakovosti. Ob testiranju izdelkov, ki so bili 20 % po pretečenem roku minimalne trajnosti (t_{120} %) je bilo ocenjenih 10 vzorcev, vzorcu 2 je bil ocenjen le videz in vonj, saj je bil izdelek že po oceni vonja senzorično nesprejemljiv. Vzorci 1, 4 in 6 so bili ob času t_{120} % prav tako nesprejemljive senzorične kakovosti zaradi slabše ocene arome in vonja, zato je v času t_{120} % šest vzorcev ustrezalo mikrobiološkim in senzoričnim kriterijem. Ob času t_{140} % smo analizirali šest izdelkov. Vzorci so bili primerne mikrobiološke varnosti, medtem ko smo pri oceni senzorične kakovosti vse preostale vzorce, z izjemo vzorca 10, ocenili z nesprejemljivo senzorično kakovostjo, predvsem zaradi negativne ocene arome in vonja.

Preglednica 1: Mikrobiološka varnost in senzorična kakovost žitnih izdelkov za zajtrk skozi čas shranjevanja.

Vzorec	t 50 %	t 100 %	t 120 %	t 140 %	t 160 %
1	MB	MB	MB	MB	/
	SA	SA	SA	SA	/
2	MB	MB	MB	/	/
	SA	SA	SA	/	/
3	MB	MB	MB	MB	/
	SA	SA	SA	SA	/
4	MB	MB	MB	/	/
	SA	SA	SA	/	/
5	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA
6	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA
7	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA
8	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA
9	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA
10	MB	MB	MB	MB	MB
	SA	SA	SA	SA	SA

Legenda: t 50 %: čas, ki ustreza 50 % časa deklariranega kot rok uporabe; t 100 %: čas deklariran kot rok uporabe; t 120 %, 140 %, 160%: čas daljši za 20 %, 40 % in 50 % od časa deklariranega kot rok uporabe; MB: mikrobiološka varnost; SA: senzorična kakovost; zeleno obarvanje: ustrezno; rdeče obarvanje: neustrezno; /: preiskava ni bila izvedena

4 ZAKLJUČEK

Rezultati naše raziskave so pokazali, da so bili žitni izdelki za zajtrk mikrobiološko varni ne glede na čas skladiščenja, k čemur zagotovo pripomore nizka aktivnost vode. Senzorična kakovost se je razlikovala glede na posamezen vzorec, zato je ključnega pomena to, da se izdelki po preteku roka minimalne trajnosti v domačem gospodinjstvu, pred uživanjem, senzorično ocenijo. Lahko rečemo, da so žitni izdelki za zajtrk v povprečju dobri vsaj še 20 % časa po preteku datuma na embalaži. To v praksi pomeni, da kosmiči, ki imajo rok minimalne trajnosti eno leto in so pravilno skladiščeni, ohranjajo svojo senzorično kakovost še dobra dva meseca po preteku roka.

Na osnovi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da so živila z minimalnim rokom trajnosti pogosto uporabna tudi po preteku roka, saj ostajajo mikrobiološko varna. Tekom skladiščenja lahko pride do sprememb v senzorični kakovosti, kar je odvisno od mnogih dejavnikov, kot so temperatura shranjevanja, fizikalno-kemijske lastnosti živila, embalaža, način konzerviranja izdelka in razmere skladiščenja. Pri zmanjševanju zavržene hrane na nivoju gospodinjstev ima ključno vlogo potrošnik, ki lahko z oceno senzorične kakovosti po preteku roka minimalne trajnosti samostojno oceni, ali je živilo primerno za uživanje ali ne.

5 VIRI

- Ivanc K. 2024. Ocena mikrobiološke varnosti in senzorične kakovosti žitnih izdelkov za zajtrk po preteku roka uporabnosti. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=163618>
- Kasza G., Szabó-Bódi B., Lakner Z., Izsó T. 2019. Balancing the desire to decrease food waste with requirements of food safety. Trends in Food Science & Technology, 84: 74 – 76. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.019>
- Manzocco L., Romano G., Calligaris S., Nicoli M.C. 2020. Modeling the effect of the oxidation status of the ingredient oil on stability and shelf life of low-moisture bakery products: the case study of crackers. Foods, 9, 6:749. <https://doi.org/10.3390/foods9060749>

- Rahman M.S., Labuza T. 2007. Water activity and food preservation. V: Handbook of food preservation. 2nd ed. Rahman M.S. (ur.). Boca Raton, CRC Press: 447 – 472, <https://doi.org/10.1201/9781420017373>
- Rehman Z. 2006. Storage effects on nutritional quality of commonly consumed cereals.
- Rupel T., Lušicky M., Pavlica T., Planina P., Vidrih J., Retelj M., Car T., Vadnjal S., Biasizzo M. 2019. Smernice za mikrobiološko varnost živil, ki so namenjena končnemu potrošniku. Ljubljana, NLZOH, Center za mikrobiološke analize živil, vod in drugih vzorcev okolja in NVI, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, https://www.gzs.si/Portals/Panoga-Kmetijska-Zivilska/Smernice_2019.pdf (september 2024)
- Trzaskowska M., Łepecka A., Neffe-Skocińska K., Marciniak-Lukasiak K., Zielińska D., Szydłowska A., Bilka B., Tomaszewska M., Kołożyn-Krajewska D. 2020. Changes in selected food quality components after exceeding the date of minimum durability— contribution to food waste reduction. Sustainability, 12, 8: 3187. <https://doi.org/10.3390/su12083187>
- Zielińska D., Bilka B., Marciniak-Lukasiak K., Łepecka A., Trzaskowska M., Neffe-Skocińska K., Tomaszewska M., Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D. 2020. Consumer understanding of the date of minimum durability of food in association with quality evaluation of food products after expiration. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17, 5: 1632. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051632>

PRIMERJAVA METOD ZA OCENJEVANJE DNEVNEGA VNOSA SOLI

Alja JAVORNIK¹, Anja BOLHA², Mateja LUŠNIC POLAK³ in Mojca KOROŠEC⁴

Povzetek: Vsakodnevno prekomerno uživanje soli lahko vodi v številne zdravstvene zaplete, kot je povišan krvni tlak ter na dolgi rok hipertenzija ali druge bolezni srca in ožilja. Zahteva po zmanjševanju vnosa soli je velika, države po svetu pa se trudijo z zakonodajo ter izobraževanjem potrošnikov njeno uporabo čim bolj omejiti. Metoda, ki za preverjanje oz. ocenjevanje vnosa soli velja za zlati standard, je merjenje izločenega natrija v 24-urnem urinu. Ker je izvedba omenjene raziskave na nacionalni ravni zahtevna, dolgotrajna in draga, si prizadevamo za validacijo drugih metod, ki bi bile cenovno dostopnejše ter manj zahtevne za izvedbo in za udeležence. V naši raziskavi smo si zadali cilj primerjati dve subjektivni metodi za merjenje vnosa soli, to sta vprašalnik o pogostosti uživanja živil in metoda priklica jedilnika prejšnjega dne, z metodo merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu. Raziskavo smo izvedli s pomočjo 50 zdravih udeležencev, ki so v razmaku enega meseca dvakrat oddali svoj vzorec urina ter izpolnili oba vprašalnika. Želeli smo dokazati, da je vprašalnik o pogostosti uživanja živil metoda, ki lahko za splošno uporabo nadomesti merjenje natrija v 24-urnem urinu, metoda priklica jedilnika prejšnjega dne pa ima slabo ujemanje z zlatim standardom in je zato manj primerna. Rezultati raziskave so pokazali, da nobena od subjektivnih metod ni imela dobrega ujemanja s standardno metodo, prav tako nista pokazali dobrega ujemanja med seboj. Zaradi svoje skrite narave je vnos soli težko natančno oceniti s subjektivno metodo, torej vprašalnik o pogostosti uživanja živil ni primeren za ocenjevanje dnevnega vnosa soli.

Ključne besede: dnevni vnos soli, vprašalnik o pogostosti uživanja živil, merjenje natrija v 24-urnem urinu, jedilnik prejšnjega dne, primerjava metod

COMPARISON OF METHODS FOR ESTIMATING DAILY SALT INTAKE

Abstract: Excessive daily consumption of salt can lead to numerous health complications, such as high blood pressure and, in the long term, hypertension or other cardiovascular diseases. The demand for reducing salt intake is therefore significant, and countries worldwide are striving to limit salt usage through legislation and consumer education. The method considered the gold standard for checking or evaluating salt intake is measuring the sodium excreted in 24-hour urine samples. Since conducting a national-level study in this way is challenging, time-consuming, and expensive, we are striving to validate other methods that would be more affordable and less demanding for both execution and for participants. In our study, we aimed to compare two subjective methods for measuring salt intake: the food frequency questionnaire and the 24-hour dietary recall, with the method of measuring sodium excreted in 24-hour urine samples. The study was conducted with 50 healthy participants, who provided their urine samples twice, one month apart, and completed both questionnaires. We hypothesized that the food frequency questionnaire is a good replacement method for measuring sodium in 24-hour urine samples for general use, while the 24-hour dietary recall method has poor alignment with the gold standard and is therefore less suitable. The results of the study showed that neither of the subjective methods had good alignment with the standard method, nor did they show good alignment with each other. Due to its hidden nature, salt intake is difficult to accurately assess using subjective methods; therefore, the food frequency questionnaire is not suitable for evaluating daily salt intake.

Keywords: daily salt intake, food frequency questionnaire, 24-hour urinary sodium excretion, 24-hour dietary recall, comparison of methods

¹ mag. inž. preh., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: alja.javornik@hotmail.com

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

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

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

1 UVOD

Že od nekdaj ljudje cenimo sol kot dobrino, ki veliko prispeva tako k tehnološkemu kot senzoričnemu vidiku hrane. Ker deluje kot ojačevalec okusa, se nam hrana brez nje zdi pusta in neokusna. Zaradi tega hrepenimo po višjih koncentracijah soli v hrani in se pogosto nagibamo k nakupu bolj slanih predelanih živil ter dosoljevanju pri mizi. Prekomerno uživanje soli je skupno ljudem skoraj po celem svetu, povezano pa ni le s senzoričnimi užitki, temveč tudi z zdravstvenimi problemi. Dolgoročno uživanje prekomernih količin soli je povezano s povišanim krvnim tlakom, ki predstavlja tveganje za razvoj bolezni srca in ožilja. Vsako leto zaradi kroničnih nenalezljivih bolezni, ki jih med drugim povzroča tudi vnos soli nad priporočenimi 5 g/dan, umre več kot 1,89 milijona ljudi na svetu (WHO, 2012; WHO, 2023).

Za oceno vnosa soli se lahko uporablja več različnih metod, vendar za zlati standard velja metoda merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu. Povprečno se več kot 90 % natrija izloči skozi ledvice, kar lahko zagotovi vpogled v skupen vnos soli, če je izvedba zbiranja pravilna. Druge metode, kot so jedilnik prejšnjega dne ter vprašalnik o pogostosti vnosa živil (FFQ – angl. food frequency questionnaire) s poudarkom na soli, pogosto podali precejšnjo dejanski vnos, vendar jih je veliko lažje ter ceneje izvesti (Thout in sod., 2019). V tej nalogi smo želeli preveriti uporabnost in natančnost prilagojenega vprašalnika FFQ, ki bi omogočal hitro in natančno oceno vnosa soli pri večjih populacijah, da bi z njim lahko nadomestili metodo merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu.

2 METODE OCENJEVANJA VNOSA SOLI

Ustrezna ocena izpostavljenosti je predpogoj za vse epidemiološke raziskave. Za prehranske študije je to velik izziv. Beleženje prehranskih navad ljudi je težka naloga. Ustrezna ocena prehranskega vnosa snovi ni pomembna le zaradi preučevanja povezave med prehrano in zdravstvenimi zapleti, temveč tudi za vpogled v prehranske navade ter oceno prehranskega statusa zdravih in bolnih. Uporaba kombinacije metod za oceno prehranskega vnosa je vedno bolj uveljavljena. Omogoča, da naslovimo več metodoloških omejitev hkrati. Lahko izberemo kombinacijo objektivne metode – nivo prehranskih biomarkerjev, in subjektivne metode – vprašalniki in prehranski dnevniki (Naska in sod., 2017).

V podporo zmanjševanju vnosa soli je potrebno vnos soli natančno spremljati in meriti. Pri tem je ključnega pomena, da se identificira najpomembnejše vire soli v prehrani. Ocenjevanje vnosa soli je zahtevna naloga, saj le-ta temelji na kompleksnih prehranjevalnih vedenjih, ki so kulturološko in socialno pogojena (Gallani in sod., 2021).

2.1 METODA MERJENJA IZLOČENEGA NATRIJA V 24-URNEM URINU

Metoda analize biomarkerjev v 24-urnem urinu pri meritvah izločenih snovi, kot so hormoni ali minerali, velja za zlati standard. Lahko se uporablja za opazovanje poteka razvoja ledvičnih kamnov in proteinurije ter ocenjevanje ledvične funkcije preko izločenega kreatinina. Med drugim se uporablja tudi za spremljanje prehranskega vnosa soli preko izločenega natrija. Merjenje le-tega v 24-urnem urinu se pogosto uporablja tudi za primerjavo in validacijo drugih metod. Približno 90 % natrija se izloči z urinom, zato je uporaba te metode precej natančna, ostalih 10 % natrija se izloča preko potenja in blata (McLean, 2014).

Če je postopek zbiranja 24-urnega urina ustrezen, nam ta metoda zagotavlja dokaj natančne rezultate, ima pa tudi svoje pomanjkljivosti. Največjo težavo predstavlja obremenitev osebe, ki mora zbirati vzorec. Boljšo analitično izraznost omogoča večdnevno zbiranje 24-urnega urina, saj nekateri analiti med dnevi precej variirajo. Tovrsten pristop bi bil za večje populacijske študije težko izvedljiv, saj je za udeležence preveč obremenjujoč. Pogosto se zgodi, da oddani vzorci niso popolni. Zaradi te pomanjkljivosti, rezultati analize urina niso natančni. Študije poročajo, da je nepopolnih med 25 % do 30 % vzorcev (Mann in Gerber, 2019).

2.2 METODA VPRAŠALNIKA O POGOSTOSTI UŽIVANJA ŽIVIL

FFQ je metoda, ki ocenjuje prehranske navade skozi daljše časovno obdobje. Je uporabno orodje za ugotavljanje navad večjega števila ljudi. Omogoča vpogled v prehranske navade različnih populacij, saj izloča dnevno variabilnost prehranjevanja. Metoda pa ni dovolj natančna pri kvantifikaciji vsebnosti različnih hranil (McLean, 2014).

Poznamo tri tipe vprašalnikov FFQ, ki se razlikujejo glede na porcije zaužitih živil. Pri izvajanju kvalitativne analize velikost porcij ni opredeljena. Pri delno kvantitativni analizi so porcije anketirancem predstavljene vnaprej, pri kvantitativnem pristopu pa jih morajo anketiranci določiti sami (Puš, 2013).

2.3 METODA JEDILNIKA PREJŠNJEGA DNE (24-URNI RECALL)

Pri metodi jedilnika prejšnjega dne morajo udeleženci podati natančne podatke o živilih in zaužitih količinah le-teh v določenem časovnem obdobju. Večinoma so podatki zajeti za pretekli dan. Obdobje je lahko tudi daljše. V analizo je potrebno vključiti vse dodatke, kot so sol, olje, kis, sladkor itd. ter vse zaužite pijače. Za anketirance ta metoda predstavlja precejšnjo obremenitev, težave pa lahko povzroča tudi nezavedno ali zavedno spremenjeno prehranjevalno vedenje udeležencev, ki morajo o svojem prehranjevanju poročati. Pogosto anketiranci poročajo o manjših zaužitih količinah zaužite hrane od dejansko zaužitih. Tovrstna pristranost se pojavlja predvsem pri osebah z višjim indeksom telesne mase (ITM). Količina zaužite soli je pomembno odvisna od dnevnega energijskega vnosa, zato je v takih primerih njena ocena nenatančna (McLean, 2014).

3 VALIDACIJA VPRAŠALNIKA FFQ S Poudarkom NA SOLI

3.1 MATERIAL IN METODE

V sklopu raziskave smo rekrutirali 50 udeležencev, ki so dvakrat v razmaku enega meseca zbirali 24-urni urin ter ob oddaji vzorca izpolnili vprašalnik FFQ in svoj jedilnik na dan zbiranja urina čim bolj natančno vpisali v aplikacijo OPKP (Odporna platforma za klinično prehrano, <https://opkp.si>). Etično ustreznost študije je odobrila Komisija za etično presojo raziskav s področja prehrane (KEP), pod številko: KEP-1-4/2021.

Po zaključenem postopku zbiranja vzorcev smo alikvote urina odnesli v Univerzitetni klinični center, v laboratorij Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo v Ljubljani, kjer je bila opravljena analiza urina. V laboratoriju so analizirali vsebnosti kreatinina, kalija ter natrija. Na podlagi rezultatov o vsebnosti natrija in kreatinina smo preračunali dnevni vnos soli udeležencev na dan zbiranja urina, v gramih (Gallani in sod., 2021). Iz analize smo izvzeli vzorce, pri katerih je analiza urina pokazala manj kot 124 $\mu\text{mol/kg}$ kreatinina za ženske ter manj kot 120 $\mu\text{mol/kg}$ za moške. Količina izločenega kreatinina nam pove, ali je bil vzorec popoln oz. nepopoln. Prav tako so bili izvzeti vzorci, kjer je bil celoten volumen manjši od 500 mL ali večji od 2900 mL (Hlastan-Ribič in sod., 2010).

Iz aplikacije OPKP smo izvozili podatke o količini zaužite soli z jedilnikom v preteklih 24 urah, rezultate FFQ pa smo s pomočjo vsebnosti soli v živilih, faktorjev za velikosti porcij živil in pogostosti uživanja posameznih živil preračunali v povprečno količino dnevno zaužite soli v gramih (Bíró in Gee, 2011).

3.2 REZULTATI Z RAZPRAVO

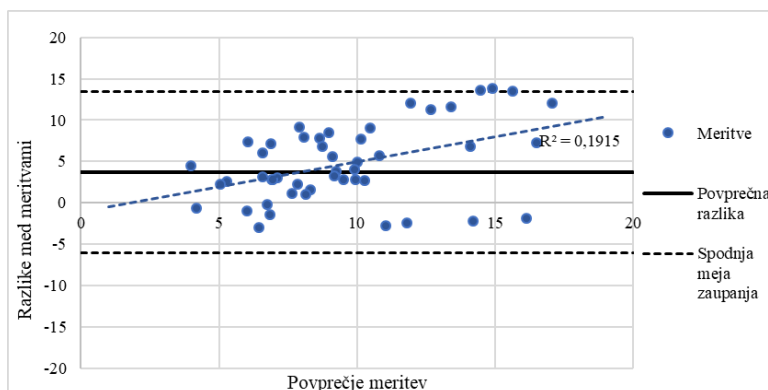
V preglednici 1 je predstavljena primerjava rezultatov, pridobljenih z različnimi metodami zbiranja podatka o vnosu natrija glede na spol. Vključeno je povprečje rezultatov obeh ponovitev. Glede na metodo merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu, je povprečen vnos soli znašal $7,8 \pm 3,4$. Rezultati vnosa soli po metodi FFQ so bili z $11,2 \pm 4,7$ v povprečju skoraj 44 % višji, rezultati vnosa soli po metodi jedilnika prejšnjega dne pa s $6,4 \pm 3,4$ za 18 % nižji. S t-testom smo izračunali p-vrednosti, ki so pokazale, da je edina statistično pomembna razlika med ženskimi in moškimi vzorci vnos soli izmerjen z metodo 24-urnega urina. Moški so v povprečju zaužili $11,4 \pm 4,0$ soli, medtem ko so ženske zaužile $7,4 \pm 3,0$ ($p < 0,05$). Povprečen vnos kalija je znašal $65,2 \text{ mmol} \pm 25,1$, priporočeni vnos, 90 mmol/dan, pa so dosegli le 4 % udeležencev.

Preglednica 2: Povprečja rezultatov analiz glede na spol (SD - standardni odklon, IQR - kvartilni razmik)

Parameter, metoda (enota)	vsi (n=50)		moški (n=6)		ženske (n=44)		p-vrednost (t-test)
	povprečje (SD)	mediana (IQR)	povprečje (SD)	mediana (IQR)	povprečje (SD)	mediana (IQR)	
natrij (mmol)	134,4 (58,2)	130,0 (58,0)	196,4 (68,9)	205,5 (71,0)	126,9 (52,0)	129,0 (53,5)	0,01
sol, 24-urni urin (g)	7,8 (3,4)	7,5 (3,4)	11,4 (4,0)	11,9 (4,1)	7,4 (3,0)	7,5 (3,1)	0,01
sol, FFQ (g)	11,2 (4,7)	10,6 (5,3)	10,3 (2,8)	11,3 (4,4)	11,3 (4,8)	10,5 (5,4)	0,41
sol, Priklic jedilnika prejšnjega dne (g)	6,4 (3,4)	5,9 (4,3)	7,8 (5,0)	7,8 (3,2)	6,2 (3,1)	5,7 (4,4)	0,36

S primerjavo rezultatov obeh oddanih vprašalnikov FFQ smo preverili zanesljivost te metode, ki naj bi omogočila vpogled v prehranjevalne navade skozi daljše časovno obdobje. Ocenili smo koeficiente znotraj razreda (ICC – angl. Inter-Class Coefficient), ki so pokazali zmerno dobro ujemanje (ICC 0,65) v rezultatih količine zaužite soli ter zelo slabo ujemanje (ICC < 0,5) v rezultatih glede na posamezne skupine živil.

Rezultate vseh uporabljenih metod za ocenjevanje dnevnega vnosa soli smo med sabo primerjali s pomočjo Bland-Altman prikaza (primer na sliki 1). Visoke vrednosti povprečnih razlik ter široki intervali ujemanja metod so pokazali slabo medsebojno ujemanje metod. Enak rezultat potrjujeta tudi analiza Spearmanovega korelacijskega koeficienta ter razporeditev v kvintile. Korelacijski koeficient za noben par metod ni presegel vrednosti 0,5, ki bi nakazovala dobro korelacijo, odstotek rezultatov v istem kvintilu pa je dosegel največ 30 %, medtem ko se je v nasprotnih kvintilih nahajala skoraj polovica rezultatov. Dobro ujemanje para metod je prikazala zgolj analiza koeficienta kapa (κ), ki je v primerjavi rezultatov metod Merjenje natrija v 24-urnem urinu ter Priklic jedilnika prejšnjega dne znašal 0,66. Primerjava ostalih parov metod je vrnila negativno vrednost koeficienta, variabilnost rezultatov je bila zelo visoka, strinjanje pa nizko.


Slika 1: Primer Bland-Altman prikaza ujemanja metod merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu ter ocene vnosa soli z FFQ

Rezultati študije skupaj poudarjajo zapletenost natančnega ocenjevanja dnevnega vnosa soli. Medtem ko FFQ kaže razumno ponovljivost, njegove omejitve pri zajemanju specifičnih prehranskih podrobnosti poudarjajo potrebo po previdnosti pri njegovi uporabi kot edine metode, zlasti za individualizirane ocene prehrane. Slabo ujemanje med FFQ in metodama Merjenje izločenega natrija v 24-urnem urinu in Priklic jedilnika prejšnjega dne kaže na potencialno precenjevanje pravega vnosa soli, če se zanašamo samo na FFQ.

Pri zaključkih moramo upoštevati tudi omejitve raziskave. Glavno omejitev predstavlja število udeležencev, minimalno število za validacijo metode je namreč 50. Tudi število ponovitev oddaje vzorca za vsako metodo je doseglo le minimum, torej dve ponovitvi. Ker FFQ zajema daljše časovno obdobje, bi bilo idealno, da bi bili vsi

vzorci urina odvzeti v večjem številu ter časovno bolj oddaljeni (Lombard in sod., 2015). Omeniti moramo tudi reprezentativnost prehranjevalnih navad na dan zbiranja urina ter beleženja jedilnika prejšnjega dne; zavedanje beleženja hrane lahko zavestno ali nezavestno vpliva na pristranskost rezultatov.

4 ZAKLJUČEK

Glede na pridobljene rezultate ne moremo zaključiti, da je katera od metod vprašalnikov primerna za splošno uporabo pri ocenjevanju vnosa soli kot nadomestilo metode merjenja izločenega natrija v 24-urnem urinu. Lahko bi rekli, da je sol nevidno živilo, saj se kot sestavina skriva v ogromni količini živilskih izdelkov, kjer je večina ljudi ne opazi in tako nima predstave o zaužiti količini. Posledično je uporaba vprašalnikov za ta namen težavna, saj so odgovori preveč subjektivni in nezanesljivi. Kljub temu njihova uporaba ni popolnoma zanemarljiva, saj je njihova prednost v bolj enostavni in manj stresni izvedbi za uporabnika. Pred odločitvijo za eno izmed metod moramo torej vedeti, kakšne so naše kapacitete ter kako natančni podatki nam zadostujejo za raziskavo.

K bolj natančnim in točnim rezultatom vprašalnikov bi prispevala predvsem boljše znanje in ozaveščenost ljudi o vsebnosti soli v različnih živilih oz. živilskih izdelkih ter posledicah prekomernega uživanja. Tako bi imeli več vpogleda v svojo prehrano in se s tem bolje zavedali, koliko soli zaužijejo ter kakšnim zdravstvenim tveganjem se lahko izpostavijo.

Glede na omejitve posameznih metod ocenjevanja vnosa soli, je nujen celosten pristop k strategijam zmanjševanja. Pobude za javno zdravje se ne bi smele osredotočati le na natančno oceno vnosa, temveč obravnavati tudi vedenjske in okoljske dejavnike, ki vplivajo na izbiro prehrane. Daljše študije, ki spremljajo spremembe prehranjevalnih navad skozi čas in njihov vpliv na zdravstvene rezultate, bi prispevale dragocene podatke za intervencije, ki temeljijo na dokazih. Takšen celosten in na dokazih temelječ pristop je ključen za dolgoročno zmanjšanje bremena bolezni, povezanih s prekomernim vnosom soli, ter za izboljšanje javnega zdravja.

5 VIRI

- Biró L., Gee J. 2011. Development of a flexible, updatable, user-friendly electronic food frequency questionnaire. *Acta Alimentaria*, 40, 1: 117-127, <https://doi.org/https://doi.org/10.1556/aalim.40.2011.1.14>
- Gallani M. C., Proulx-Belhumeur A., Almeras N., Després J. P., Doré M., Giguère J. F. 2021. Development and validation of a salt food frequency questionnaire (ffq-na) and a discretionary salt questionnaire (DSQ) for the evaluation of salt intake among french-canadian population. *Nutrients*, 13, 1: 105, <https://doi.org/10.3390/nu13010105>
- Hlastan-Ribič C., Zakotnik J. M., Vertnik L., Vegnuti M., Cappuccio F. P. 2010. Salt intake of the Slovene population assessed by 24 h urinary sodium excretion. *Public Health Nutrition*, 13, 11: 1803-1809, <https://doi.org/10.1017/S136898001000025X>
- Lombard M. J., Steyn N. P., Charlton K. E., Senekal M. 2015. Application and interpretation of multiple statistical tests to evaluate validity of dietary intake assessment methods. *Nutrition Journal*, 14: 40, <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0027-y>
- Mann S. J., Gerber L. M. 2019. Addressing the problem of inaccuracy of measured 24-hour urine collections due to incomplete collection. *Journal of Clinical Hypertension (Greenwich)*, 21, 11: 1626-1634, <https://doi.org/10.1111/jch.13696>
- McLean R. M. 2014. Measuring population sodium intake: A review of methods. *Nutrients*, 6, 11: 4651-4662, <https://doi.org/10.3390/nu6114651>
- Naska A., Lagiou A., Lagiou P. 2017. Dietary assessment methods in epidemiological research: current state of the art and future prospects. *F1000Research*, 6: 926: <https://doi.org/10.12688/f1000research.10703.1>
- Puš T. 2013. Primerjava metod za določanje prehranskega statusa posameznika: doktorska disertacija, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- Thout S. R., Santos J. A., McKenzie B., Trieu K., Johnson C., McLean R., Arcand J., Campbell N. R. C., Webster J. 2019. The science of salt: Updating the evidence on global estimates of salt intake. *The Journal of Clinical Hypertension*, 21, 6: 710-721, <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jch.13546>

WHO. 2012. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva, World Health Organisation, <https://www.who.int/publications/i/item/9789241504836> (10.9.2024)

WHO. 2023, WHO global report on sodium intake reduction. Geneva, World Health Organization, <https://www.who.int/publications/i/item/9789240069985>

KARAKTERIZACIJA MLEVSKIH FRAKCIJ PARADIŽNIKOVE POGAČE IN NJIHOV VPLIV NA TEXTURNE LASTNOSTI NAMAZOV IZ STROČNIC

Andrijana KJIROSKA¹, Mateja LUŠNIC POLAK² in Blaž CIGIĆ³

Povzetek: V zadnjih letih se je potreba po izrabi odpadne hrane močno povečala. Kot uporabno surovino je mogoče izkoristiti odpadke, ki nastajajo v živilsko predelovalni industriji. Ena od teh je predelovalna industrija paradižnika, kjer nastajajo velike količine paradižnikove pogače. Zaradi svoje sestave se lahko pogača uporabi za obogatitev različnih živil ali prehranskih izdelkov, predvsem s prehransko vlaknino. Posušeno paradižnikovo pogačo smo uporabili za pripravo mlevskih frakcij z različno velikostjo delcev in jih okarakterizirali. V vseh frakcijah je bila prevladujoča komponenta prehranska vlaknina, pri čemer je bilo razmerje med netopno in topno vlaknino največje v frakciji z najmanjši delci. Ta frakcija je imela tudi najmanjše razmerje med kapaciteto za vezavo vode in vezavo olja. Razlike med vsebnostjo antioksidantov in prostih fenolnih spojin v posameznih frakcijah so bile relativno majhne. Mlevski frakciji s finimi in srednje velikimi delci v deležih 1 % in 2 % smo uporabili za pripravo sojinih, čičerikinih in fižolovih namazov. Ugotovili smo, da dodatek mlevskih frakcij poveča trdoto vseh namazov, še posebej tistih z večjim deležem dodanih mlevskih frakcij. Mlevska frakcija z večjimi delci ima tudi večji vpliv na trdoto vseh treh namazov.

Ključne besede: paradižnikova pogača, stročnice, emulzije, prehranska vlaknina, rastlinski namazi

CHARACTERISATION OF TOMATO POMACE MILLING FRACTIONS AND THEIR INFLUENCE ON THE TEXTURAL PROPERTIES OF LEGUME SPREADS

Abstract: In recent years, the need for the utilization of food waste has increased significantly. Waste generated in the food processing industry can be used as a useful raw material. One of these is the tomato processing industry, where large quantities of tomato pomace are obtained. Due to its composition, the pomace can be used to enrich various foods or food products, especially with dietary fiber. Dried tomato pomace was used to prepare milled fractions with different particle sizes and characterized. The major component in all fractions was dietary fiber, with the ratio of insoluble to soluble fiber being the largest in the fraction with the smallest particles. This fraction also had the smallest ratio of water-binding capacity to oil-binding capacity. The differences between the content of antioxidants and free phenolic compounds in individual fractions were relatively small. Milled fractions with fine and medium-sized particles in the proportion of 1% and 2% were used to prepare soy, chickpea and bean spreads. We found that the addition of milled fractions increased the hardness of all spreads, especially those with a higher proportion of milled fractions added. Milled fractions with larger particles had a greater effect on the hardness of all three spreads.

Keywords: tomato pomace, legumes, emulsion, dietary fiber, vegetable spreads

¹ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: andrijanakiroska.ak@gmail.com

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

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

1 UVOD

Industrijska predelava paradižnika predstavlja pomembno gospodarsko dejavnost s proizvodnjo več kot 100 milijonov ton na leto (Laranjeira in sod., 2022). Zaradi velikega obsega proizvodnje je količina stranskih proizvodov pri predelavi paradižnika v obsegu milijonov ton (Belović in sod., 2017). Kvantitativno najpomembnejši stranski proizvod je paradižnikova pogača, ki vsebuje predvsem semena, lupino in nekaj preostale pulpe. Paradižnikovo pogačo se običajno uporablja za živalsko krmo ali gnojilo. Vendar pa vse več raziskav kaže, da so stranski produkti predelave paradižnika bogati z vlaknino, likopenom, maščobami in drugimi spojinami, ki imajo ugoden vpliv na zdravje (Lu in sod., 2019), zato je paradižnikovo pogačo priporočljivo vključevati v prehrano ljudi. Vlaknina v paradižnikovi pogači predstavlja do 50 % suhe mase (Del Valle in sod., 2006), pri čemer je delež netopne vlaknine večji (Bozsoki in sod., 2021). Delež netopne in topne vlaknine je bližje vlaknini v žitih kot vlaknini v zelenjavni in sadju, ki vsebujejo večji relativni delež topne vlaknine (Belović in sod., 2016; O'Shea in sod., 2012).

Paradižnikovo pogačo se lahko vključi v različna živila z namenom izboljšanja prehranske vrednosti, funkcionalnih in senzoričnih lastnosti (Chabi in sod., 2024). Zamenjava dela pšenične moke s pogačo je vplivala na spremembo reoloških lastnosti testa in večjo trdoto kruha (Mironeasa in sod., 2018). Dodatek je vplival tudi na aktivnost alfa-amilaze in podaljšal čas vzhajanja testa (Mironeasa in Codinã, 2019). Delna zamenjava moke s paradižnikovo pogačo je rezultirala v senzorično trših špagetih (Padalino in sod., 2015). Paradižnikovo pogačo so vključili tudi v maso za čevapčiče (Stajić in sod., 2024), kar je povzročilo manjšo izcejo, večjo trdoto in elastičnost, ni pa imelo negativnega vpliva na senzorične lastnosti končnega izdelka.

2 MATERIAL IN METODE

Posušena paradižnikova pogača (poreklo Makedonija, donirala dr. Mišela Temkov), ki je odpadke pri predelavi mezge, je bila zračno sušena in do mletja shranjena v plastični embalaži. Pogačo smo pred frakcioniranjem homogenizirali (GRINDOMIX GM 20) v štirih zaporednih ciklih ($10\,000\text{ min}^{-1}$, 20 s). Nato smo zmleto pogačo zaporedno presejali skozi sita z velikostjo odprtin 0,67 mm in 0,265 mm ter tako pridobili tri mlevske frakcije.

Mlevskim frakcijam smo določili vsebnost beljakovin z metodo po Kjeldhalu (Prandi in sod., 2019), pepel po peturnem sežigu pri $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ v žarilni peči, topno in netopno vlaknino gravimetrično s »Total dietary fiber kit« (Megazyme), vsebnost maščob gravimetrično po ekstrakciji s heksanom, vsebnost antioksidantov z metodo DPPH in skupnih fenolov z metodo Folin-Ciocalteu, po predhodni ekstrakciji z acetonom (Cajzek in sod., 2019). Mlevskim frakcijam smo določili tudi kapaciteto za vezavo vode in vezavo olja (Dhingra in sod., 2020).

Mlevski frakciji z najmanjšimi delci (fina) in delci srednje velikosti (srednja) smo uporabili za pripravo namazov iz kuhanega in konzerviranega fižola, čičerika in soje. Namazi na osnovi čičerike in fižola so vsebovali 15 % repičnega olja, glede na odcejeno maso stročnice, sojini pa 10 %. Vsi namazi so vsebovali 1 % soli, glede na odcejeno maso ter 0 %, 1 % ali 2 % mlevske frakcije. Namaze smo pripravili v ročnem blenderju (3x30 s) in jih nato termično obdelali s temperaturnim gradientom od $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ v trajanju 80 min. Namaze smo ohladili na sobno temperaturo in naslednji dan izvedli instrumentalne meritve teksturnih lastnosti (trdota) z aparaturo TA.XT Plus in kontaktnim nastavkom SMSP/20.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 SESTAVA PARADIŽNIKOVE POGAČE IN MLEVSKIH FRAKCIJ

Iz rezultatov, prikazanih v Preglednici 1, je razvidno, da tako pogača kot vse mlevske frakcije vsebujejo največ vlaknine. Prevladuje netopna vlaknina (največ 53 % v fini frakciji), manj je topne vlaknine (največ 15 % v grobi frakciji). Fina in groba frakcija se tudi najbolj razlikujeta v razmerju med netopno in topno vlaknino, saj je le-to 4,1 v fini frakciji in 3,1 v grobi frakciji. Vsebnosti so primerljive s korenčkovo pogačo (O'Shea in sod., 2012). V predhodnih raziskavah na paradižnikovi pogači so določili večja razmerja med netopno in topno vlaknino (Shao in sod., 2013), hkrati pa ugotovili, da se po termični obdelavi razmerje zmanjša na 4 (Isik in Topkaya, 2016), kar

se sklada z našimi rezultati. Na razmerje vlaknin vpliva tudi delež semen in lupine paradižnika v pogači (Özbek in sod., 2020).

Preglednica 1: Sestava paradižnikove pogače in mlevskih frakcij

[% SS]	Pogača ¹	Groba mlevska frakcija ²	Srednja mlevska frakcija ³	Fina mlevska frakcija ⁴
Pepel	3,98 ± 0,01	5,17 ± 0,01	3,7 ± 0,02	3,6 ± 0,02
Beljakovine	11,2	12,5	10,7	12,5
Topna vlaknina	14 ± 2	15 ± 1	13 ± 1	13 ± 1
Netopna vlaknina	49 ± 1	47 ± 2	50 ± 1	53 ± 1
Maščobe	3,4 ± 0,3	4,4 ± 0,3	3,4 ± 0,1	4,0 ± 0,4

¹Pogača: Zmleta paradižnikova pogača; ²Groba mlevska frakcija: velikost delcev >0,67 mm; ³Srednja mlevska frakcija: velikost delcev med 0,67 mm in 0,265 mm; ⁴Fina mlevska frakcija: velikost delcev < 0,265 mm.

Vsebnosti beljakovin in maščob se med frakcijami le malo razlikujejo, medtem ko so večje razlike v vsebnosti pepela, v grobi frakciji je njegova vsebnost za 44 % večja v primerjavi s fino frakcijo.

3.2 VSEBNOST ANTIOKSIDANTOV IN KAPACITETA PARADIŽNIKOVE POGAČE TER MLEVSKIH FRAKCIJ ZA VEZAVO VODE IN OLJA

V pogači kakor tudi v posameznih frakcijah smo določili večjo vsebnost fenolnih spojin kot antioksidantov, kar se sklada z večjo reaktivnostjo fenolnih spojin in drugih antioksidantov v Folin Ciocalteu testu v primerjavi z DPPH testom (Abramovič in sod., 2018). Vrednosti, ki smo jih določili z obema metodoma, so približno za faktor dva manjše kot so predhodno določili Özbek in sod., (2020) ter Savatović in sod., (2012). Manjše vrednosti bi lahko pripisali izgubi antioksidantov ki lahko nastane zaradi relativno dolgega shranjevanja pred analizo (Corrêa-Filho in sod., 2022).

Preglednica 2: Vsebnost antioksidantov in prostih fenolnih spojin v paradižnikovi pogači in mlevskih frakcijah

TE [μmol/g]	Pogača	Groba mlevska frakcija	Srednja mlevska frakcija	Fina mlevska frakcija
Proste fenolne spojine	13,8 ± 0,6	13,8 ± 0,5	15,0 ± 0,3	14,6 ± 0,7
Antioksidanti	6,0 ± 0,7	6,32 ± 0,03	5,89 ± 0,07	6,62 ± 0,03
Fenolne spojine/ Antioksidanti	2,3	2,2	2,5	2,2

Med posameznimi frakcijami smo ugotovili manjše razlike tako v absolutni kot relativni vsebnosti antioksidantov in fenolnih spojin. Največ fenolnih spojin smo določili v srednji mlevski frakciji, največ antioksidantov pa v fini frakciji. Omenjeni frakciji se tudi najbolj razlikujeta v razmerju med reaktivnostjo v Folin Ciocalteu in DPPH testu, kar kaže na različno sestavo redoks aktivnih spojin v posameznih frakcijah (Abramovič in sod., 2017).

Preglednica 3: Kapaciteta paradižnikove pogače in mlevskih frakcij za vezavo olja in vode

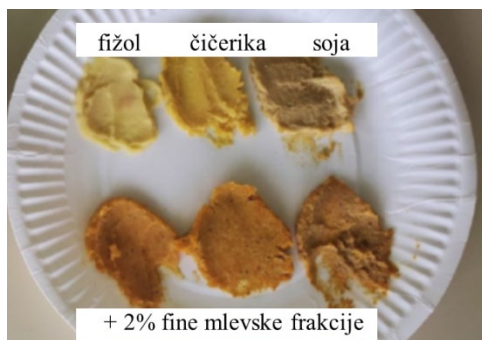
[g/g]	Pogača	Groba mlevska frakcija	Srednja mlevska frakcija	Fina mlevska frakcija
Kapaciteta vezave vode	6,3 ± 0,4	7,1 ± 0,2	7,6 ± 0,1	5,4 ± 0,6
Kapaciteta vezave olja	2,5 ± 0,2	2,2 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,5 ± 0,2
Kap. voda / kap. olje	2,5	3,2	2,5	2,2

Iz rezultatov v Preglednici 3 je razvidno, da smo v vseh primerih določili večjo kapaciteto za vezavo vode kot za vezavo olja, kar se sklada z relativno veliko polarnostjo prevladujoče komponente (prehranska vlaknina). Pogači iz krompirjevih semen so predhodno določili podobno kapaciteto za vezavo olja kot v naši raziskavi, medtem ko je bila kapaciteta za vezavo vode le 3,3 g/g (Maldonado-Torres in sod., 2020). Z našo raziskavo primerljivo kapaciteto za vezavo vode so določili v pogači, ki je vsebovala predvsem kožice paradižnika (Navarro-González in sod., 2011). Med posameznimi frakcijami smo določili relativno velike razlike v kapaciteti za vezavo vode in

olja, kar ima lahko vpliv na reološke in funkcionalne lastnosti živil z vključenimi frakcijami paradižnikove pogače.

3.3 VPLIV DODATKA MLEVSKIH FRAKCIJ PARADIŽNIKOVE POGAČE NA BARVO IN TRDOTO NAMAZOV IZ STROČNIC

Dodatek fine mlevske frakcije pogače je imel velik vpliv na barvo namazov (Slika 1). Največjo relativno spremembo v parametru a^* , s katerim je definirana barva na osi zeleno/rdeče v CIE barvi skali, smo določili fižolovemu namazu ($-2,16 \rightarrow 2,43$), sledi čičerikin ($-1,74 \rightarrow 2,06$) in najmanjšo sojinemu namazu ($0,04 \rightarrow 1,82$).



Slika 1: Vpliv 2 % dodatka fine mlevske frakcije na barvo namazov iz stročnic

Osnovni namazi brez dodanih mlevskih frakcij se razlikujejo v trdoti. Najmanjšo trdoto je ima sojin namaz, kar bi lahko pripisali večji vsebnosti maščob in manjši vsebnosti škroba ter prehranske vlaknine (podatki z deklaracije) v primerjavi s kuhanim fižolom in čičeriko. Dodatek obeh frakcij je rezultiral v povečani trdoti namaza, kar se sklada s predhodnimi ugotovitvami, kjer so dodajali paradižnikovo pogačo v testo za kruh (Mironeasa in sod., 2018), v špagete (Padalino in sod., 2015) in v maso za čevapčiče (Stajić in sod., 2024). Ugotovili smo, da 2 % dodatek srednje frakcije rezultira v največjem povečanju trdote namaza fižolovega namaza (+ 1,66 N), sledi čičerikin namaz (+ 1,45 N), najmanj pa je dodatek srednje frakcije vplival na povečanje trdote sojinega namaza (+ 0,79 N).

Preglednica 4: Vpliv 1 % ali 2 % dodatka srednje ali fine mlevske frakcije paradižnikove pogače na trdoto namazov iz fižola, čičerike in soje

Trdota [N]	Fižol	Soja	Čičerika
Kontrola	$0,76 \pm 0,03$	$0,57 \pm 0,01$	$1,20 \pm 0,02$
1 % srednja frakcija	$1,44 \pm 0,01$	$1,06 \pm 0,03$	$1,76 \pm 0,03$
2 % srednja frakcija	$2,42 \pm 0,05$	$1,36 \pm 0,02$	$2,65 \pm 0,09$
1 % fina frakcija	$1,69 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,01$	$1,57 \pm 0,05$
2 % fina frakcija	$1,77 \pm 0,01$	$1,26 \pm 0,01$	$2,5 \pm 0,1$

4 ZAKLJUČEK

Iz zmlete posušene paradižnikove pogače smo pripravili tri mlevske frakcije, ki so se razlikovale v velikosti delcev in v kemijski sestavi. Ugotovili smo relativno velike razlike v razmerju med topno in netopno vlaknino med posameznimi frakcijami, kakor tudi v kapaciteti za vezavo vode in olja, kar predstavlja pomemben parameter pri uporabi na področju živilstva. Dodatek izbranih frakcij v maso za pripravo namazov iz stročnic je povečal trdoto namazov. Na reološke lastnosti so vplivali tako količina dodatka, vrsta frakcije kot tudi tip stročnice..

5 VIRI

Abramovič H., Grobin B., Poklar Ulrih N., Cigić B. 2018. Relevance and standardization of in vivo antioxidant assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu. Journal of Chemistry, 2018: ID 4608405, doi: 10.1155/2018/4608405.

- Abramovič, H., Grobin, B., Poklar, N., Ulrih, Cigić, B. 2017. The Methodology Applied in DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu Assays Has a Large Influence on the Determined Antioxidant Potential. *Acta chimica Slovenica*, 64(2): 491–499. <https://doi.org/10.17344/acs.2017.3408>
- Belović M., Pajić-Lijaković I., Torbica A., Mastilović J., Pećinar I. 2016. The influence of concentration and temperature on the viscoelastic properties of tomato pomace dispersions. *Food Hydrocolloids*, 61: 617–624, doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.021
- Belović M., Torbica A., Pajić-Lijaković I., Mastilović J. 2017. Development of low calorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace. *Journal of Food Chemistry*, 237, 1226 – 1233, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.045.
- Bozsoki A., Muste S., Pop A., Paucean A., Chiş M.S., Man S. 2021. Valorization of tomato pomace in innovative food products and evaluation of synergetic effect with *Mentha piperita* L. and *Anethum graveolens* L. – A comprehensive review. *Hop and Medicinal Plants*, 29, 1-2: 164 – 172.
- Cajzek F., Bertonecelj J., Kreft I., Poklar Ulrih N., Polak T., Požrl T., Pravst I., Poljšenská I., Vaculová K., Cigić B. 2019. Preparation of β -glucan and antioxidant-rich fractions by stone milling of hull-less barley. *International Journal of Food Science & Technology*, 55, 2: 681 – 689, doi: 10.1111/ijfs.14322.
- Chabi I.B., Zannou O., Dedeou E.S.C.A., Ayegnon B.P., Odouaro O.B.O., Maqsood S., Galanakis C.M., Kayodé A.P.P. 2024. Tomato pomace as a source of valuable functional ingredients for improving physicochemical and sensory properties and extending the shelf life of foods: A review. *Heliyon*, 10(3): e25261, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e25261.
- Corrêa-Filho L.C., Santos D.I., Brito L., Moldão-Martins M., Alves V.D. 2022. Storage stability and in vitro bioaccessibility of microencapsulated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) pomace extract. *Bioengineering*, 9, 7: 311, doi: 10.3390/bioengineering9070311.
- Del Valle M., Cámara M., Torija M.E. 2006. Chemical characterization of tomato pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 1232–1236, doi: 10.1002/jsfa.2474.
- Dhingra D., Michael M., Rajput H., Patil R.T. 2012. Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science & Technology*, 49, 3: 255–266, doi: 10.1007/s13197-011-0365-5.
- Isik F., Topkaya C. 2016. Effects of tomato pomace supplementation on chemical and nutritional properties of crackers. *Italian Journal of Food Science*, 28: 525–535, doi: 10.14674/1120-1770%2Fijfs.v510136.
- Laranjerira T., Costa A., Faria-Silva C., Ribeiro D., Ferreira de Oliveira J.M.P., Simões S., Ascenso A. 2022. Sustainable valorization of tomato by-products to obtain bioactive compounds: their potential in inflammation and cancer management. *Molecules*, 27, 5: 1701, doi: 10.3390/molecules27051701.
- Lu Z., Wang J., Gao R., Ye F., Zhao G. 2019. Sustainable valorization of tomato pomace: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86: 172–187, doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.020.
- Maldonado-Torres R., Morales-Camacho J.I., López-Valdez F., Huerta-González L., Luna-Suárez S. 2020. Assessment of techno-functional and nutraceutical potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) seed meal. *Molecules*, 25, 18: 4235, doi: 10.3390/molecules25184235.
- Mironeasa S., Codină G.G. 2019. Dough Rheological Behavior and Microstructure Characterization of Composite Dough with Wheat and Tomato Seed Flours. *Foods*, 8(12): 626, doi: 10.3390/foods8120626.
- Mironeasa S., Codină G.G., Mironeasa C. 2018. Effect of Composite Flour Made from Tomato Seed and Wheat of 650 Type of a Strong Quality for Bread Making on Bread Quality and Alveograph Rheological Properties. *International Journal of Food Engineering*, 4(1): 22–26, doi: 10.18178/ijfe.4.1.22-26.
- Navarro-González I., García-Valverde V., García-Alonso J., Periago M.J. 2011. Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*, 44, 5: 1528 – 1535, doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.005.
- O'Shea N., Arendt E.K., Gallagher E. 2012. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16: 1–10, doi: 10.1016/j.ifset.2012.06.002.
- Padalino L., Conte A., Lecce L., Likyova D., Sicari V., Pellicano T.M., Poiana M., Del Nobile M.A. 2015. Durum Wheat Whole-meal Spaghetti with Tomato Peels: How By-product Particles Size Can Affect Final Quality of Pasta. *Journal of Food Processing & Technology*, 6: 500, doi: 10.4172/2157-7110.1000500.
- Prandi B., Faccini A., Lambertini F., Bencivenni M., Jorba M., Van Droogenbroek B., Bruggeman G., Schöber J., Petrusan J., Elst K., Sforza S. 2019. Food wastes from agrifood industry as possible sources of proteins: a detailed molecular view on the composition of the nitrogen fraction, amino acid profile and racemization degree of 39 food waste streams. *Food Chemistry*, 289, 567 – 575 doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.166.

- Savatović S., Četković G., Čanadanović-Brunet J., Djilas S. 2012. Tomato waste: a potential source of hydrophilic antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63, 2: 129-137, doi: 10.3109/099637486.2011.606211.
- Shao D., Atungulu G.G., Pan Z., Yue T., Zhang A., Chen X. 2013. Separation methods and chemical and nutritional characteristics of tomato pomace. *Transactions of the ASABE*, 56, 1: 261 – 268, doi: 10.13031/2013.42577.
- Stajić S., Skwarek P., Đurđević S., Karwowska M., Pisinov B., Tomašević I., Kurćubić V. 2024. Tomato Pomace Powder as a Functional Ingredient in Minced Meat Products—Influence on Technological and Sensory Properties of Traditional Serbian Minced Meat Product Čevapi. *Processes*, 12(7): 1330, doi: 10.3390/pr12071330.
- Özbek Aksoylu Z., Çelik K., Ergönül P. G., Hepiçimen A.Z. 2020. A promising food waste for food fortification: Characterization of dried tomato pomace and its cold pressed oil. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, 6, 1: 9-17, doi: 10.17756/jfcn.2020-078.

POVEČANJE UČINKA ANTIBIOTIKOV NA BAKTERIJE *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* Z ELEKTROPORACIJO

Polona KOMEL¹, Žana LOVŠIN², Tadej KOTNIK³ in Anja KLANČNIK⁴

Povzetek: Naraščajoča problematika odpornosti bakterij proti antibiotikom zahteva inovativne pristope za izboljšanje učinkovitosti antibiotikov. Uporaba elektroporacije, metode za povečanje permeabilnosti celične membrane, je eden izmed pristopov za izboljšanje delovanja antibiotikov na bakterije. V našem delu smo preučevali vpliv kombinacije elektroporacije in antibiotikov na rast po Gramu pozitivne bakterije *Lactiplantibacillus plantarum*. Poleg tega smo bakterije po elektroporaciji, izvedeni pri različnih jakosti električnega polja (0, 5, 10, 15 in 20 kV/cm) in jih po elektroporaciji inkubirali pri različnih časovnih obdobjih. Analizo učinkovitosti elektroporacije in antibiotikov na inhibicijo rasti bakterij smo izvedli z inkubacijo elektroporiranih vzorcev na ploščah z gojiščem MRS in 24-urnim spektrofotometričnim spremljanjem rasti s čitalcem mikrotitrskih plošč. Rezultati so pokazali, da elektroporacija poveča učinkovitost antibiotikov, zmanjša rast bakterij za več kot eno logaritemsko enoto, pri čemer večja jakost elektroporacije in višje koncentracije antibiotikov privedejo do večje inhibicije rasti. Pri analizi učinka kombinacije elektroporacije s posameznimi antibiotiki (ampicilin in tetraciklin) smo ugotovili, da je ampicilin pri nižjih koncentracijah bolj učinkovito zaviral rast, medtem ko smo pri višjih koncentracijah zaznali večjo inhibicijo rasti pri tetraciklinu.

Ključne besede: *Lactiplantibacillus plantarum*, elektroporacija, antibiotiki

INCREASED EFFECT OF ANTIBIOTICS ON *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* WITH ELECTROPORATION

Abstract: The increasing problem of bacterial resistance to antibiotics requires innovative approaches to improve their effectiveness. The use of electroporation, a method to increase the permeability of the cell membrane, is one such approach to improve the effect of antibiotics on bacteria. In our master's thesis, we investigated the effects of combining electroporation and antibiotics on the growth of the Gram-positive bacterium *Lactiplantibacillus plantarum*. We incubated the bacteria with antibiotics, with electroporation at different electric field amplitude (0, 5, 10, 15 and 20 kV/cm) and after electroporation incubated them in different time periods. The efficacy of electroporation and antibiotics in inhibiting bacterial growth was analyzed by incubating the electroporated samples on Petri dishes with MRS growth medium and 24-hour spectrophotometrically monitoring their growth using a microplate reader. The results showed that electroporation increases the effectiveness of antibiotics and reduces bacterial growth by more than one logarithmic unit, with higher electroporation intensity and higher antibiotic concentrations leading to greater growth inhibition. When analyzing the effect of combining electroporation with an antibiotic, we found that ampicillin was more effective at lower concentrations, while tetracycline showed greater growth inhibition at higher concentrations.

Keywords: *Lactiplantibacillus plantarum*, electroporation, antibiotics

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: polona.komel@gmail.com

² dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: zana.lovsin@gmail.com

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Tržaška cesta 25, Ljubljana, e-mail: tadej.kotnik@fe.uni-lj.si

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

1 UVOD

Prisotnost odpornih bakterij spodbuja iskanje novih antibiotikov ter povečanje njihove učinkovitosti v kombinaciji s kemijskimi ali fizikalnimi pristopi (Berdejo in sod., 2019; WHO, 2019). Elektroporacija z uporabo kratkih električnih pulzov poveča prepustnost celične membrane, kar omogoča lažji vnos snovi v celice. Velikost in obstojnost por določajo intenziteta, trajanje in število pulzov (Miklavčič, 2012). Elektroporacija lahko poveča učinek antibiotikov, saj so pri kombinirani uporabi že nižje koncentracije učinkovitejše (Rubin in sod., 2019; Vadlamani in sod., 2020). Učinek je odvisen tudi od časa inkubacije po obdelavi ter jakosti polja in števila pulzov (Lovšin in sod., 2021; 2024).

V kombinaciji z elektroporacijo smo uporabili antibiotike z različnimi mehanizmi delovanja: (i) Ampicilin, beta-laktamski antibiotik, ki prehaja skozi zunanjo membrano in zavira sintezo celične stene (Madigan in sod., 2014; Wright, 1999); (ii) Tetraciklin, antibiotik iz skupine tetraciklinov, ki zavira sintezo proteinov z vezavo na 16S rRNA 30S ribosomske podenote (Chopra in Roberts, 2001); (iii) Ciprofloksacin, antibiotik iz skupine fluorokinolonov, ki zavira podvojevanje in popravilo DNA (Ojkic in sod., 2020). Namen dela je bil preučiti sinergistični učinek elektroporacije in antibiotikov na rast bakterije *Lactiplantibacillus plantarum*. Zanimalo nas je, kako na rast vplivata dva časa inkubacije z antibiotiki po elektroporaciji ter ali različni mehanizmi delovanja antibiotikov povzročajo različno stopnjo inhibicije. Uporabljeni metodi sta bili metodi spektrofotometrično merjenje rasti in test inaktivacije.

2 METODE IN REZULTATI

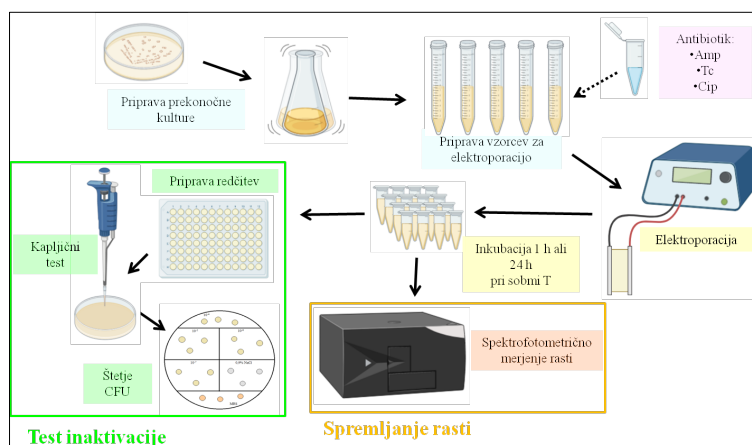
2.1 DELOVANJE ANTIBIOTIKOV V KOMBINACIJI Z ELEKTROPORACIJO

Eksperimentalno zasnovano smo povzeli po Lovšin in sod. (2021) ter jo prilagodili za rast bakterij *L. plantarum* (Slika 1). Pripravili smo bakterije v eksponentni fazi rasti. Celice smo skoncentrirali s centrifugiranjem in jih resuspendirali v 250 mM saharozi. Vzorec smo razdelili na pet delov in jim dodali različne koncentracije antibiotikov, določene glede na MIK (Preglednica 1).

Preglednica 3: Preglednica z izbranimi koncentracijami antibiotikov.

Vrednosti Antibiotik	MIK	3×MIK	10×MIK	30×MIK
Ampicilin	3 µg/ml	9 µg/ml	30 µg/ml	90 µg/ml
Tetraciklin	8 µg/ml	24 µg/ml	80 µg/ml	240 µg/ml
Ciprofloksacin	70 µg/ml	210 µg/ml	700 µg/ml	2 100 µg/ml

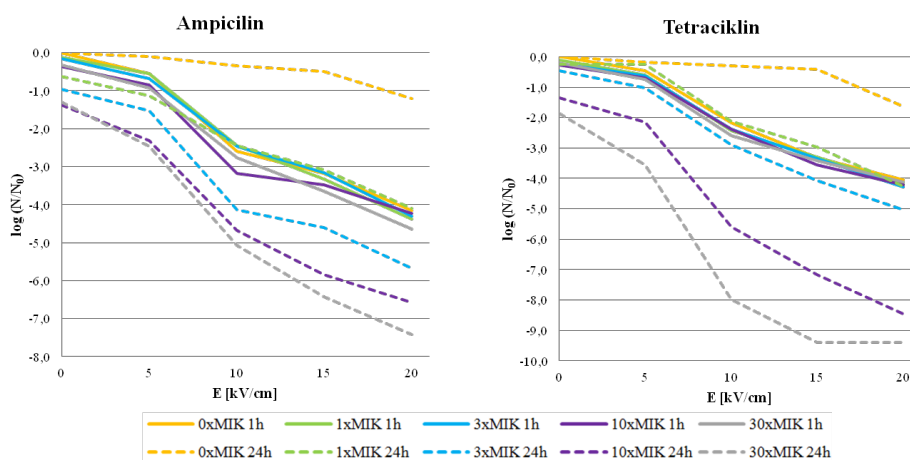
Elektroporacijo smo izvedli pri jakostih 0–20 kV/cm. Celice smo po obdelavi inkubirali 1 uro ali 24 ur pri sobni temperaturi. Vzorce po 1 uri inkubacije smo uporabili za spektrofotometrično merjenje rasti, preostale (1 h in 24 h) pa za test inaktivacije s kapljično metodo. Po inkubaciji 48 h pri 37 °C smo prešteli kolonije in izračunali koncentracijo CFU/mL. Vzorci s ciprofloksacinom so bili izločeni zaradi previsoke prevodnosti pri višjih koncentracijah. Statistična obdelava podatkov je bila izvedena s pomočjo programov Excel 2007 in R Commander (GNU General Public License).



Slika 4: Prikaz glavnih korakov ovrednotenja učinka antibiotikov v kombinaciji z elektroporacijo z metodo inaktivacije in s spremljanjem rasti na čitalcu mikrotitskih ploščic.

2.2 TEST INAKTIVACIJE BAKTERIJ *L. PLANTARUM*

Pri testu inaktivacije smo imeli 4 skupine vzorcev, ki smo jih elektroporirali pri različnih jakostih električnega polja z različnimi koncentracijami posameznega antibiotika: (i) vzorci z ampicilonom inkubirani eno uro po elektroporaciji; (ii) vzorci z ampicilonom inkubirani 24 ur po elektroporaciji; (iii) vzorci s tetraciklinom inkubirani eno uro po elektroporaciji; (iv) vzorci s tetraciklinom inkubirani 24 ur po elektroporaciji. Za primerjavo stopenj inaktivacije rasti med različnimi vzorci, smo stopnjo inaktivacije rasti bakterij ($\log(N/N_0)$) prikazali kot razmerje CFU/mL med tretiranim vzorcem (N) in netretiranim vzorcem (N_0) (slika 2).



Slika 5: Prikaz inhibicije rasti bakterij *L. plantarum* po dveh inkubacijah z ampicilonom in tetraciklinom.

Po enurni inkubaciji zaznamo le učinek elektroporacije, saj ni razlik med vzorci z različno koncentracijo antibiotikov. Čas je prekratek za okrevanje celic in učinkovanje antibiotikov, ki ciljajo predvsem na rastoče celice. Po 24 urah so si celice deloma opomogle, kar je omogočilo delovanje antibiotikov. Inhibicija rasti se je povečevala z jakostjo električnega polja in koncentracijo antibiotikov; pri najvišjih vrednostih tetraciklina rasti nismo zaznali. Vpliv trajanja inkubacije po elektroporaciji na zaviranje rasti bakterij *L. plantarum*. Preučevali smo vpliv inkubacijskega časa po elektroporaciji na inhibicijo rasti z enakimi koncentracijami antibiotikov in jakostmi električnega polja (Slika 2). Brez antibiotikov je bila inhibicija po 24 h manjša zaradi okrevanja celic in boljšega prehoda hranil. Pri višjih koncentracijah antibiotikov je bila inhibicija po 24 h večja: do 3 log pri ampicilinu in do 6 log pri tetraciklinu. Ugotavljamo, da je za zaznavanje sinergijskega učinka potrebna daljša inkubacija po elektroporaciji.

4 ZAKLJUČEK

V magistrski nalogi smo preučevali vpliv kombinacije elektroporacije in antibiotikov ampicilina ter tetraciklina na rast bakterij *Lactiplantibacillus plantarum*. Antibiotike smo testirali v različnih koncentracijah in jakostih električnega polja, vzorce pa inkubirali 1 ali 24 ur. Inhibicijo rasti smo merili z CFU/mL in spremljanjem rasti (OD₆₀₀). Enourna inkubacija ni zadoščala za delovanje antibiotikov, zato smo zaznali predvsem učinek elektroporacije. Inhibicija rasti se je povečala z jakostjo polja nad 5 kV/cm in višjimi koncentracijami antibiotikov, pri čemer je tetraciklin pri višjih koncentracijah bil učinkovitejši od ampicilina. Meritve OD₆₀₀ so pokazale podaljšanje ali odsotnost eksponentne faze rasti, kar kaže na upočasnjeno okrevanje celic. Elektroporacija tako povečuje učinkovitost antibiotikov in vpliva na rastni profil bakterij *L. plantarum*.

5 ZAHVALA

Delo sta omogočila projekta ARIS J2-50064, J4-4548 in program P4-0116.

6 VIRI

- Berdejo D., Pagán E., García-Gonzalo D., Pagán, R. 2019. Exploiting the synergism among physical and chemical processes for improving food safety. *Current Opinion in Food Science*, 30: 14–20
- Chopra I., Roberts M. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 65, 2: 232–260
- Lovšin Ž., Klančnik A., Kotnik T. 2021. Electroporation as an efficacy potentiator for antibiotics with different target sites. *Frontiers in Microbiology*, 12: 722232
- Lovšin Ž., Kotnik T., Klančnik A. 2024. Antibiotic's target site affects the potentiation of *Lactiplantibacillus plantarum* inhibition and inactivation by electroporation. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1331714.
- Madigan M., Martinko M., Bender K., Buckley D., Sthal D. 2014. *Brock biology of microorganisms*. 14th ed. London, Pearson: 835-840
- Miklavčič D. 2012. Network for development of electroporation-based technologies and treatments: COST TD1104. *The Journal of Membrane Biology*, 245: 591-598
- Ojkic N., Lilja E., Direito S., Dawson A., Allen R. J., Waclaw B. 2020. A roadblock-and-kill mechanism of action model for the DNA-targeting antibiotic ciprofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64, 9: e02487-19
- Rubin A. E., Usta O. B., Schloss R., Yarmush M., Golberg A. 2019. Selective inactivation of *P. aeruginosa* and *S. epidermidis* with pulsed electric fields and antibiotics. *Advances in Wound Care*, 8: 136–148
- Vadlamani R. A., Dhanabal A., Detwiler D. A., Pal R., McCarthy J., Seleem M. N., Garner A. L. 2020. Nanosecond electric pulses rapidly enhance the inactivation of Gram-negative bacteria using Gram-positive antibiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104: 2217–2227
- WHO. 2019. New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis. New York, World Health Organization (maj 2025)
- Wright A. J. 1999. The penicillins. *Mayo Clinic Proceedings*, 74, 3: 290-307
- Yarmush M. L., Golberg A., Serša G., Kotnik T., Miklavčič D. 2014. Electroporation-based technologies for medicine: principles, applications, and challenges. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16: 295-320

MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA IN FAZNI PREHODI ČOKOLADE

Tomaž KOPAC¹, Rajko VIDRIH², Marjeta MENCIN³ in Iztok PRISLAN⁴

Povzetek: Z metodo GC-FID smo analizirali maščobnokislinsko sestavo čokolade in rezultate primerjali s faznimi prehodi, izmerjenimi s pomočjo metode DSC. Ugotovili smo, da imajo temne čokolade v povprečju najvišjo vsebnost stearinske kisline in najnižjo vsebnost srednje-verižnih maščobnih kislin, hkrati pa imajo najvišje temperature ter največje spremembe entalpij faznih prehodov. LDA je potrdila povezavo med visoko vsebnostjo stearinske maščobne kisline in visoko vrednostjo entalpij in temperature faznih prehodov pri temni čokoladi.

Ključne besede: čokolada, maščobne kisline, fazni prehodi, plinska kromatografija, diferenčna dinamična kalorimetrija

FATTY ACID COMPOSITION AND PHASE TRANSITIONS OF CHOCOLATE

Abstract: Using the GC-FID method, we analyzed the fatty acid composition of chocolate and compared the results with phase transitions measured using the DSC method. We found that dark chocolates, on average, have the highest stearic acid content and the lowest content of medium-chain fatty acids. At the same time, they exhibit the highest phase transition temperatures and the largest changes in enthalpy. LDA confirmed the correlation between high stearic acid content and high enthalpy and temperature values of phase transitions in dark chocolate.

Keywords: chocolate, fatty acids, phase transitions, gas chromatography, differential scanning calorimetry

¹ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, tomy.kopac@gmail.com

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

³ dr., Institut "Jožef Stefan", Odsek za znanosti o okolju, Jamova 39, Ljubljana, e-mail: marjeta.mencin@ijs.si

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

1 UVOD

Čokolada je živilo, pridobljeno iz kakavovih zrn. Sestavljena je iz kakavovih trdnih sestavin (prahu), kakavovega masla, sladkorja in emulgatorja lecitina. Pogosto pa so ji dodane tudi druge sestavine: oreški, sadje, kosmiči in ostale sestavine (Torres-Moreno in sod., 2014). Čokolada je energijsko in hranilno bogato živilo (sprememba sežigalne entalpije znaša okoli - 25 kJ/g). K energetski vrednosti največ prispevajo ogljikovi hidrati in maščobe. Prvi se večinoma nahajajo v obliki sladkorjev. Večja kot je vsebnost kakavovih delov, večja je vsebnost maščob in manjša je vsebnost ogljikovih hidratov. Kakavova zrna vsebujejo okoli 55 % maščobe, medtem, ko je vsebnost maščobe v čokoladi navadno manjša - med 25 in 35 %. Maščobo v veliki večini predstavlja kakavovo maslo, po Evropski zakonodaji (2000/36/EC) lahko čokolada poleg kakavovega masla vsebuje do 5 % drugih dodanih rastlinskih maščob (Afoakwa, 2010; Vitova in sod., 2009). Temna čokolada navadno vsebuje le en tip maščobe, in sicer kakavovo maslo, mlečna in bela čokolada po vsebujeta tudi mlečno maščobo (do 30 % skupne maščobe).

Maščobe v čokoladi se nahajajo v obliki triacilglicerolov (TAG), ki jih sestavljajo 3 molekule maščobnih kislin (MK), zaestrene na molekulo glicerola. 95 % vseh MK v čokoladi predstavljajo zgolj 3 MK: oleinska (35 %), stearinska (34 %) in palmitinska MK (26 %), sledi linolna MK. V čokoladi prevladujejo TAG z vsaj eno nenasičeno MK. Prispevajo k nižji viskoznosti, ki je pomembna za oblikovanje stabilnejših kristalov med temperiranjem čokolade (Pirouzan in sod., 2020; Afoakwa, 2010).

2 MATERIAL IN METODE

Čokolado smo kupili v bližnjih živilskih trgovinah. Pri izbiri smo bili pozorni, da so bile čokolade različne po sestavi. Razvrstili smo jih na 4 skupine: Temna, Mlečna, Bela ter Nerazvrščena čokolada.

Maščobnokislinsko sestavo čokolade smo določili posredno preko metilnih estrov MK s pomočjo GC. Ta metoda zahteva visoko hlapne vzorce, zato smo maščobo pretvorili v metilne estre MK, ki imajo boljšo hlapnost. Za analizo smo uporabili plinski kromatograf Agilent Technologies 6890 N.

Fazne prehode čokolade smo spremljali neposredno na koščkih čokolade, ki smo jih hermetično zaprli v posebne aluminijaste lončke. Za analizo vzorcev smo uporabili diferenčni dinamični kalorimeter Discovery DSC 2500.

Za razlikovanje in razvrščanje vzorcev v vnaprej določene skupine na podlagi njihovih spremenljivk smo uporabili linearno diskriminantno analizo (LDA). LDA smo izvedli v programu XLSTAT, verzija 2024 (Addinsoft, Long Island, NY, ZDA).

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA ČOKOLADE

Z GC smo analizirali MK sestavo posameznih vzorcev ter med seboj primerjali tudi različne skupine čokolad (Temna, Mlečna, Bela in Nerazvrščena). Skupine 'Nerazvrščena' nismo obravnavali kot enotne skupine, temveč zgolj kot posamezne vzorce, saj gre za nabor čokolad z raznoliko sestavo in vsebnostjo maščobe.

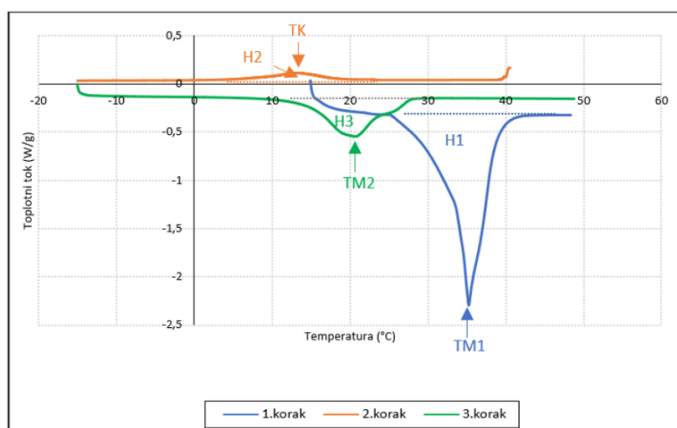
Izračunali smo povprečne vrednosti MK vsake skupine in rezultate zbrali v preglednici 1. Na podlagi teh rezultatov lahko opazimo, da imajo vse skupine čokolad največjo vsebnost stearinske, oleinske in palmitinske MK, kar je v skladu z rezultati drugih raziskav (da Silva in sod., 2017; Torres-Morreno in sod., 2015). Največ palmitinske kisline so vsebovali vzorci Temne čokolade, kar se sklada z vrednostmi iz raziskave Torres-Morreno in sod. (2015). Vsebnosti srednjeveržnih MK (C8:0-C14:0) se med skupinami čokolad razlikujejo. Opazimo lahko, da jih Temna čokolada praktično ne vsebuje. Enako so ugotovili Torres-Morreno in sod. (2015). To je posledica MK sestave kakavovega masla, ki predstavlja edino maščobo v Temni čokoladi. Na drugi strani pa jih Bela in Mlečna čokolada vsebujeta nekoliko več, zaradi mlečne maščobe, ki se nahaja v obeh skupinah čokolad. V nekaterih raziskavah so vsebnosti srednjeveržnih MK v mlečni čokoladi še precej višje (Metin in Hartel, 2012).

Preglednica 1: Povprečni deleži (v %) različnih vrst MK v skupinah temnih, mlečnih in belih čokolad.

Skupina čokolad	Vrsta MK												
	C8_0	C10_0	C12_0	C14_0	C16_0	C16_1	C18_0	C18_1	C18_2	C18_3	C20_0	NMK	NNMK
temna	ND	0,009 ±0,001	0,064 ±0,079	0,099 ±0,027	25,29 ±0,40	0,276 ±0,046	36,99 ±0,34	32,85 ±0,22	3,03 ±0,25	0,198 ±0,015	1,206 ±0,037	63,63 ±0,24	36,36 ±0,24
mlečna	0,092 ±0,009	0,311 ±0,028	0,511 ±0,053	1,64 ±0,27	26,32 ±0,37	0,552 ±0,054	33,26 ±0,78	32,52 ±0,46	3,46 ±0,25	0,295 ±0,027	1,036 ±0,036	63,18 ±0,75	36,82 ±0,75
bela	0,086 ±0,013	0,278 ±0,022	0,489 ±0,022	1,507 ±0,023	25,98 ±0,17	0,562 ±0,045	34,17 ±0,23	32,07 ±0,38	3,487 ±0,019	0,300 ±0,003	1,070 ±0,022	63,58 ±0,34	36,42 ±0,34

3.2 FAZNI PREHODI ČOKOLADE

S pomočjo diferenčne dinamične kalorimetrije (DSC) smo želeli dobiti podatke o faznih prehodih maščobe v čokoladi. Na sliki 5 je prikazan primer termograma vseh treh korakov z grelno/ohlajevalnimi krivuljami. S pomočjo posnetih termogramov smo določili temperaturo faznega prehoda taljenja (T_t) oziroma kristalizacije (T_k) vseh treh korakov. Pridobili pa smo tudi vrednosti spremembe entalpije (ΔH), ki predstavlja količino energije povezane s fazno spremembo čokolade ter potek faznih prehodov, katere nam poda oblika krivulja. V prvem koraku smo čokolado segreli nad njeno temperaturo tališča, s čimer je čokolada prešla iz trdne v tekočo obliko. V drugem koraku je poteklo hlajenje čokolade in posledično kristalizacija, pri čemer je čokolada znova prešla v trdno obliko. Tretji korak je vključeval ponovno gretje oziroma taljenje čokolade in njen prehod v tekočo obliko.


Slika 1: Primer termograma vzorca čokolade s parametri vseh treh faznih prehodov

Povprečja izmerjenih temperatur in sprememb entalpij so zbrana v preglednici 2. Iz teh rezultatov lahko opazimo, da ima Temna čokolada v vseh treh korakih višjo T prehodov, v primerjavi s preostalimi skupinami. Visoke vrednosti T_{t1} temne čokolade kažejo na prisotnost polimorfne oblike, ki je termično najbolj stabilna. Precej nižje vrednosti T_{t1} (>3 °C razlike) so v svoji raziskavi izmerili de Melo in sod. (2020). Mlečna in Bela čokolada sta imeli nekoliko nižje vrednosti T_{t1} . Mlečna in Bela čokolada imata med seboj primerljivi vrednosti v vseh korakih. Verjetno zato, ker imata podobni vsebnosti maščobe in ker je njuna sestava maščob podobna, saj vsebujeta tako kakavovo maslo, kot mlečno maščobo.

Fazni prehod Temne čokolade spremlja največja sprememba entalpije, kar je verjetno posledica tega, da ima največjo vsebnost maščobe. Prav tako imajo vzorci Mlečne čokolade z višjo vsebnostjo maščobe nekoliko višjo entalpijo (za 1,4 J/g) kot tisti z nižjo vsebnostjo maščobe. To je v skladu z ugotovitvami raziskav Afoakwa in sod. (2008). Razlika med entalpijami se med skupinami čokolad, ohranja skozi vse tri korake. Opazimo lahko tudi zanimiv trend obnašanja entalpij pri vseh treh skupinah - med 1. in 2. korakom se vrednosti sprememb entalpije precej razlikujejo, med 2. in 3. korakom pa so podobne. Razlog za to je verjetno v temperaturno-časovnem režimu, ki ni bil ustrezen za popolno kristalizacijo v prvotno obliko kristalov.

Preglednica 2: Povprečne temperature in spremembe entalpij faznih prehodov skupin čokolad.

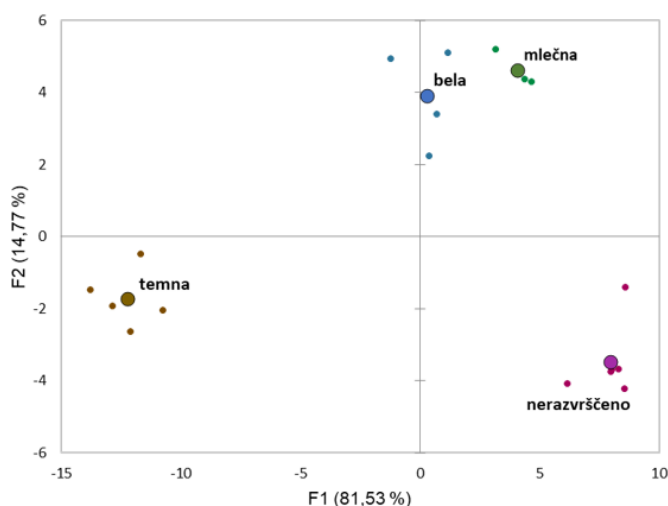
Skupina čokolad	T_{t1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_k (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{t2} (°C)	ΔH_3 (J/g)
temna	$35,7 \pm 1,1$	55 ± 8	$13,0 \pm 0,3$	35 ± 6	$20,6 \pm 0,6$	36 ± 6
mlečna	$32,8 \pm 0,4$	28 ± 2	$12,5 \pm 0,3$	19 ± 1	$18,0 \pm 0,6$	20 ± 1
bela	$33,2 \pm 0,3$	27 ± 1	$12,7 \pm 0,2$	$17,2 \pm 0,4$	$18,0 \pm 0,4$	$17,4 \pm 0,3$

3.3 LINEARNA DISKRIMINANTNA ANALIZA

Multivariatno analizo - LDA smo uporabili za ugotavljanje razlik med štirimi različnimi skupinami čokolad (Temna, Mlečna, Bela, Nerazvrščeno) na podlagi 15 spremenljivk (MK sestava, entalpija faznih prehodov), ki smo jih določali.

Iz slike 2 je razvidno, da so skupine Temna, Mlečna in Bela čokolada dokaj heterogene. Razberemo lahko dve dobro ločeni skupini čokolad, in sicer Temna čokolada in Nerazvrščena čokolada. Skupina Temna čokolada se nahaja v spodnjem levem kvadrantu grafa, kar pomeni, da imajo vzorci največje vrednosti entalpij faznih prehodov (ΔH_1 , ΔH_2 in ΔH_3), večje vrednosti temperatur prehodov (T_{t1} in T_{t2}) ter najvišjo vsebnost C18:0 in C20:0 v primerjavi z ostalimi skupinami. Ti rezultati so skladni z ugotovitvami Smith in sod., (2013), ki so ugotovili, da je višja vsebnost C18:0, povezana z boljšo stabilnostjo kristalov in višjimi temperaturami faznih prehodov. Po drugi strani imajo vzorci Temne čokolade najmanjšo vsebnost srednjeveržnih MK (C8:0, C10:0, C12:0, C14:0).

Vzorci iz skupine Nerazvrščena čokolada se nahajajo v spodnjem desnem kvadrantu in se ločijo od ostalih skupin zaradi višje vsebnosti srednjeveržnih MK ter nižjih vrednosti temperatur faznih prehodov. Sklepamo lahko, da omenjene maščobe slabše kristalizirajo oziroma otežujejo kristalizacijo preostalih MK in tako vplivajo na nižjo temperaturo faznih prehodov. To opažanje podpirajo ugotovitve avtorjev raziskave Subroto in sod., (2023), ki so poročali, da je imela čokolada z večjo vsebnostjo kokosove maščobe (lavrinska MK), nižjo temperaturo tališča kot čokolada, ki je vsebovala manj omenjene MK. Skupini Bela in Mlečna čokolada sta razvrščeni v zgornjem desnem kvadrantu in kažeta podobne vsebnosti MK ter DSC parametre, zaradi česar se težje ločita med seboj. Od ostalih dveh skupin (Temna in Nerazvrščeno) pa se ločita predvsem zaradi višje vsebnosti C18:3n3 in C16:1.


Slika 2: Graf linearne diskriminantne analize za vzorce čokolade razdeljene v štiri skupine (Temna, Mlečna, Bela, Nerazvrščeno).

4 ZAKLJUČEK

Z uporabo metode GC-FID smo uspešno določili MK sestavo čokolad različnih skupin. Sestava čokolad se precej razlikuje, saj čokolade vsebujejo različne vrste ter količine maščob. Čokolade iz iste skupine so imele zelo podobno sestavo maščob kot tudi količine posameznih MK. Izjema je bila le skupina Nerazvrščeno, kar je posledica velikih razlik v sestavi čokolade.

S pomočjo metode DSC smo določili temperature faznih prehodov čokolade. Temna čokolada je imela najvišje temperature prehoda, Bela in Mlečna čokolada sta imela primerljive vrednosti. Prav tako smo s pomočjo metode DSC določili vrednosti entalpij faznih prehodov. Temna čokolada je imela najvišje vrednosti ΔH , Bela ter Mlečna pa najnižje vrednosti. Nerazvrščena čokolada je imela vrednosti ΔH podobne slednjima.

Metoda LDA je pri skupini Temna čokolada pokazala korelacijo med visoko vsebnostjo C18:0, visokimi vrednostmi sprememb entalpij ter tališč na eni strani in nizko vsebnostjo srednjeveržnih MK na drugi strani. Vrednosti entalpij so večje na račun večje vsebnosti MK, kar je bilo pričakovano. Višje temperature faznih prehodov so lahko posledica boljše termične stabilnosti C18:0. Vzorce iz skupin Temna in Nerazvrščeno lahko razvrstimo na podlagi MK sestave in temperature ter entalpije faznih prehodov. Po drugi strani pa lahko skupini Bela in Mlečna čokolada jasno ločimo od skupin Temna in Nerazvrščena čokolada, medtem ko ju med seboj ločimo težje.

5 VIRI

- Afoakwa E. O., Paterson A., Fowler M., Vieira, J. 2008. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. *Food Research International*, 41(7), 751–757
- Afoakwa E. O. 2010. *Chocolate Science and Technology*. 1st ed. Chishester, Wiley-Blackwell
- da Silva T. L. T., Grimaldi R., Calligaris G. A., Cardoso L. P., Gonçalves L. A. G. 2017. Crystallinity properties and crystallization behavior of chocolate fat blends. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1979–1989
- de Melo C. W. B., Bandeira M. de J., Maciel L. F., Bispo E. da S., de Souza C. O., Soares S. E. 2020. Chemical composition and fatty acids profile of chocolates produced with different cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivars. *Food Science and Technology*, 40(2), 326–333
- Directive 2000/36/EC of the European Parliament and of the Council of 23 June 2000 relating to cocoa and chocolate products intended for human consumption
- Metin S., Hartel R. W. 2012. Milk Fat and Cocoa Butter. *Cocoa Butter and Related Compounds*, 365–392
- Pirouzian H. R., Konar N., Palabiyik I., Oba S., Toker O. S. 2020. Pre-crystallization process in chocolate: Mechanism, importance and novel aspects. *Food Chemistry*, 321, 126718
- Smith K. W., Bhaggan K., Talbot G. 2013. Phase behavior of symmetrical monounsaturated triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(8), 838–846
- Subroto E., Indarto R., Pangawikan A. D., Lembong E., Wulandari E., Selica A., Hartomo J. I. 2023. Melting behaviour of cocoa butter substitutes synthesised by enzymatic glycerolysis of coconut oil and palm stearin blends. *Food Research*, 7(3), 194–202
- Torres-Moreno M., Torrecasana E., Salas-Salvadó J., Blanch C. 2015. Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chemistry*, 166, 125–132
- Vítová E., Loupancova B., Štoudková H., Macku I., Zemanova J., Babak L. 2009. Effect of fat composition on some physico-chemical parameters and sensorial evaluation of dark chocolate. *Journal of Food & Nutrition Research*, 48(2)

DOLOČANJE MIKROBNIH ZDRUŽB NA MIKROPLASTIKI V MORSKI VODI IN ŠKOLJKAH

Vanja KOROŠA¹, Živa KOLENC², Nicol JANECKO³, Manca KOVAČ VIRŠEK⁴ in Anja KLANČNIK⁵

Povzetek: Prisotnost mikroplastike v okolju, vodi in živilih se je v zadnjih letih zaradi globalne onesnaženosti s plastiko zelo povečala. Mikroplastiko lahko zaradi majhnosti zaužijejo morski organizmi, ki so del prehrane ljudi. Ker so delci mikroplastike dobra podlaga za tvorbo biofilma, predstavljajo tveganje za prenos kemijskih in mikrobioloških onesnaževal tekom prehranjevalne verige. V sklopu naloge smo vzorčili morsko vodo in školjke na treh lokacijah na slovenski obali. Iz vzorcev morske vode in školjk smo izolirali mikroplastiko, izolirali DNA z namenom določanja mikrobnih združb na delcih ter določili kemijsko strukturo delcev. Zaradi majhnosti vzorcev smo za čim večjo količino DNA najprej s testnimi vzorci mikroplastike optimizirali izolacijo DNA, pri čemer smo spreminjali korake za mehansko razgradnjo celic ter komercialne kite za izolacijo. Z metataksonomsko analizo smo ugotovili, da so bile na mikroplastiki najpogostejše prisotne bakterije debel *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* in *Bacteroidetes*. Nekatere izmed bakterij, izoliranih iz školjk, so bili človeški patogeni. Vseh rezultatov metataksomske analize nismo mogli povezati z mikroplastiko zaradi nezmožnosti določitve polimerne sestave nekaterih delcev. S pomočjo spektroskopije FTIR smo določili kemijsko sestavo delcev in za pet izmed 23 vzorcev potrdili, da gre za polimerne materiale iz polivinil klorida, polietilena, akrilnitril butadien stirena in polipropilena.

Ključne besede: mikroplastika, morsko okolje, školjke, mikrobnе združbe

DETERMINATION OF MICROBIAL COMMUNITIES ON MICROPLASTICS IN MARINE ENVIRONMENT AND SHELLFISH

Abstract: The presence of microplastics in the environment, water and food has increased significantly in recent years due to global plastic pollution. Due to their small size, microplastics can be ingested by marine organisms that are part of the human diet. Since microplastic particles are a good substrate for biofilm formation, they pose a risk of transferring chemical and microbiological contaminants along the food chain. In the present study, we isolated DNA to determine the microbial communities on microplastics in seawater and shellfish on the Slovenian coast, as well as the chemical structure of the particles. Due to the small size of the samples, we attempted to optimize DNA isolation by adding steps to mechanically disrupt the cells to maximize DNA extraction with simulated microplastic samples. Metataxonomic analysis showed that the most abundant bacteria on microplastics were dominated by the strains *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* and *Bacteroidetes*. The bacterial communities found on microplastics belong to over 400 different species in average. Some of the bacteria isolated from shellfish are human pathogens. We cannot link all the results of the metataxonomic analysis with microplastics because it is not possible to determine the polymer composition of all the particles. FTIR spectroscopy was used to determine the chemical composition of the particles. The polymer composition was confirmed for 5 of the total 23 samples. The polymers identified in the samples were polyvinyl chloride, polyethylene, acrylonitrile butadiene styrene and polypropylene.

Keywords: microplastics, marine environment, shellfish, microbial communities

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: vanja.korosa96@gmail.com

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

³ dr. Quadram Institute, Rosalind Franklin Road, Norwich Research Park, Norwich, Velika Britanija, e-mail: Nicol.Janecko@quadram.ac.uk

⁴ dr. Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 121, Ljubljana, Slovenija, e-mail: manca.kovac.virsek@nib.si

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

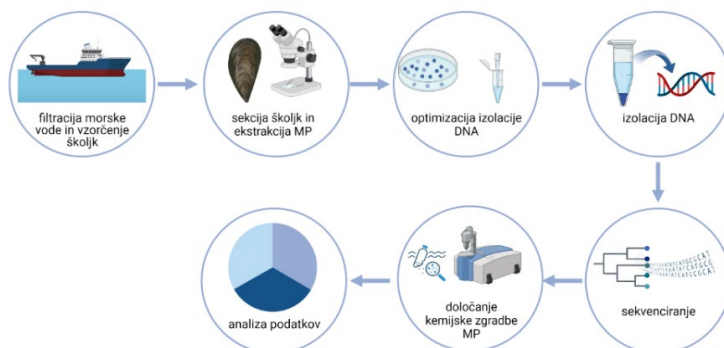
1 UVOD

V zadnjih desetletjih sta množična proizvodnja in uporaba plastike povzročili obsežno odlaganje plastičnih odpadkov, ki se pod vplivom fizikalnih, kemijskih in bioloških dejavnikov razgradijo na manjše delce. Mikroplastika so delci manjši od 5 mm, stabilni, obstojni in težko razgradljivi (Moore, 2008). Njihova majhnost, hidrofobnost in velika površina omogočajo kopičenje organskih in anorganskih onesnaževal (Khoshmanesh in sod., 2023). Na vezavo vplivajo tudi barva, gostota, starost delcev, kemijske lastnosti mikroplastike in onesnaževal, prisotnost biofilma ter okoljski pogoji, kot so raztopljena organska snov in slanost (Amelia in sod., 2021). Mikroplastika predstavlja največji vir izpostavljenosti potrošniku pri uživanju morskih sadežev, kjer WHO poroča o povprečni vsebnosti 3 ± 4 mikroplastike/gram telesne mase (WHO, 2022). Ribje vrste vsebujejo mikroplastiko v prebavilih, vendar je količina zaužite mikroplastike pri ljudeh manjša v primerjavi z drugimi morskimi organizmi, kot so školjke, raki in kozice (Al Mamun in sod., 2023). Školjke filtrirajo mikroplastiko, jo prenašajo po prehranjevalni verigi in vplivajo na zdravje ljudi (Renzi in sod., 2018). V našem delu smo preučevali mikroplastiko v vodi in školjkah *Mytilus galloprovincialis* na Debelem rtiču, v Seči in Strunjanu. Z optimiziranim protokolom za izolacijo DNA smo analizirali mikrobne združbe in polimerno sestavo mikroplastike v vodi ter školjkah (Kolenc in sod., 2024).

2 METODE DELA

2.1 VZORČENJE IN IZOLACIJA MIKROPLASTIKE

Vzorčenje školjk v morski vodi je potekalo 24. 3. 2022 na Debelem rtiču in Strunjanu (slika 1), vzorčenje vode na Debelem rtiču. Vzorčenje vode smo izvedli na način filtracije z vodno črpalko, školjke pa smo nabirali iz rešt na globinah od 3 do 7,3 m. Skupaj smo zbrali približno 50 školjk na vsaki globini. Vzorce smo shranili, nato pa smo v naslednjih tednih, z uporabo stereomikroskopa, izvajali sekcijo školjk za izolacijo mikroplastike. Prav tako smo s stereomikroskopijo iskali delce mikroplastike na filtrih, na katere smo filtrirali morskno vodo.



Slika 6: Shema vzorčenja školjk, izolacije in karakterizacije mikroplastike, izolacije DNA ter sekveniranja

2.1 IZOLACIJA DNA

Najprej smo optimizirali postopek izolacijo DNA. Pri tem smo uporabili 5 let stare mikroplastike in simulirane vzorce mikroplastike iz polietilen tereftalata z dodatkom mešanih kultur. Testirali smo 4 komplete za izolacijo DNA: DNA Miniprep (The ZymoBIOMICS), Genlute RNA/DNA/Protein Purification Plus (Sigma-Aldrich), DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen) in DNeasy PowerBiofilm (Qiagen). Ob upoštevanju navodil proizvajalcev smo dodali korake, s katerimi smo povečali stopnjo mehanske lize celic: podaljšano mešanje na stresalniku in ultrazvočno kopel. Optimizacijo smo najprej izvedli s starimi vzorci mikroplastike.

Nadalje smo s pomočjo simuliranih vzorcev mikroplastike iz mešane kulture v dveh ločenih eksperimentih, kjer smo poskušali ugotoviti, s katerimi dodatnimi koraki in spremenljivkami lahko dosežemo največji iznos DNA (slika 2). Na podlagi vseh meritev koncentracije DNA, hitrosti in praktičnosti izvedbe ter razpoložljivosti smo za

izolacijo DNA iz naših vzorcev izbrali komplet DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen). Vzorce DNA smo poslali na metataksonomsko analizo na Quadram Institute v Veliko Britanijo. Pred določanjem kemijske strukture vzorcev mikroplastike smo morali pridobiti vzorce mikroplastike iz mikrocentrifugirk s kroglicami iz postopka izolacije DNA. Zaradi majhnosti vzorcev in kroglic smo ta korak izvajali pod mikroskopom s pomočjo pincet. Shranili smo jih v novo mikrocentrifugirke in jih prenesli v laboratorij na Inštitut za vode Republike Slovenije, kjer smo s spektroskopsko metodo mikro-FTIR določili kemijsko strukturo vzorcev.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Iz morske vode na Debelem rtiču smo skupno izolirali 17 fragmentov mikroplastike. Za 5 od njih smo po analizi s spektroskopijo FTIR ugotovili, da gre za polimerne materiale. Za ostale vzorce tega nismo mogli potrditi, saj delež ujemanja s standardom in bil dovolj visok. Pri dveh vzorcih je šlo za polivinil klorid (PVC), preostali trije pa so bili iz polietilena visoke gostote (HDPE), akrilonitril butadien stirena in polipropilena (PP).

V skupno 129 pregledanih školjkah z Debelega rtiča in 30 iz Seče, smo izolirali 5 delcev, od tega 4 iz školjk z Debelega rtiča in 1 iz školjke iz Seče. Za nobenega od teh delcev nismo dokazali, da je iz polimernih materialov. Od 5 vzorcev (4 iz vode in 1 iz školjke), ki smo jim uspeli določiti mikrobne združbe, smo za 1 potrdili, da je iz polimernih materialov (polivinil klorid). Za preostale 4 vzorce, za katere smo uspeli potrditi, da so iz polimernih materialov, mikrobiološka analiza ni uspela.

Metataksonomska analiza je bila uspešna pri 4 delcih mikroplastike iz vode in pri enem delcu iz školjk, za katerega sicer nismo potrdili polimerne sestave. Rezultati so večinoma pokazali pričakovano sestavo biofilmov glede na pretekle raziskave. To so bili rodovi *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* in *Bacteroidetes*. Bilo je tudi nekaj izstopajočih mikrobnih združb.

Ugotovili smo, da mikroplastiko iz morske vode in školjk kolonizirajo različni mikroorganizmi. Na mikroplastiki iz morske vode smo namreč določili v povprečju preko 400 vrst na vzorec, na mikroplastiki iz školjke pa 286 vrst. Posamezni delci mikroplastike so se razlikovali tako v kemijski strukturi kot na sestavi mikrobnih združb.

4 ZAKLJUČEK

Mikroplastika zaradi dolgotrajne razgradnje v naravi predstavlja okoljski problem, saj je vir tveganja zaradi prenosa kemijskih onesnaževal in mikrobnih združb (Al Mamun in sod., 2023). Izolirani mikroplastiki smo določili kemijsko strukturo. Od 5 vzorcev, ki smo jim uspeli določiti mikrobne združbe, smo za 1 potrdili, da je iz polimernih materialov (polivinil klorid). Poleg tega smo še za 4 vzorce potrdili, da so iz polimernih materialov, vendar pri njih mikrobiološka analiza ni uspela. Mikrobiološka analiza je pokazala, da je sestava bakterij na mikroplastiki zelo raznovrstna, npr. rodovi *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* in *Bacteroidetes*. Izstopal je vzorec mikroplastike, koloniziran s rodom *Campylobacter*, ki pri ljudeh povzroča prebavne težave. Ker za omenjeni vzorec nismo določili kemijske strukture, ne moremo z gotovostjo trditi, da je v našem primeru mikroplastika vektor prenosa patogenih bakterij. V vsakem primeru je rezultat zaskrbljujoč, saj je bil delec izoliran iz morskega okolja, in ga zaradi majhnosti lahko zaužijejo morski organizmi, s čimer se patogene bakterije lahko prenesejo v prehransko verigo ljudi, ki uživajo morske organizme. Prav tako so rezultati metataksomske analize pokazali vsebnost bakterij rodov *Klebsiella* in *Yersinia*, od katerih so nekateri sevi prav tako patogeni (Kolenc in sod., 2024). Predvsem na področju mikrobnih združb na mikroplastiki iz školjk ni dovolj dostopnih raziskav, s pomočjo katerih bi lahko ocenili tveganje uživanja školjk za zdravje ljudi. Poleg tega so v študijah uporabljene različne metodologije dela, zaradi česar je rezultate težko primerjati med seboj.

5 ZAHVALA

Delo je omogočil projekt ARIS J4-4548 in program P4-0116.

6 VIRI

- Al Mamun A., Eka Prasetya T. A., Ratna Dewi I., Ahmad M. 2023. Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to health safety. *Science of The Total Environment*, 858, 1: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159834>
- Amelia T. S. M., Khalik W. M. A. W. M., Ong M. C., Shao Y. T., Pan H. J., Bhubalan K. 2021. Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. *Progress in Earth and Planetary Science*, 8, 12: <https://doi.org/10.1186/s40645-020-00405-4>
- Khoshmanesh M., Sanati A. M., Ramavandi B. 2023. Co-occurrence of microplastics and organic/inorganic contaminants in organisms living in aquatic ecosystems: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 187: 114563, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114563>
- Kolenc Ž., Kovač Viršek M., Klančnik A., Janecko N. 2024. Microbial communities on microplastics from seawater and mussels: Insights from the northern Adriatic Sea. *Science of The Total Environment*, 949, 175130: 1-7. doi [10.1016/j.scitotenv.2024.175130](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175130).
- Moore C. J. 2008. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, longterm threat. *Environmental Research*, 108, 2: 131–139
- Renzi M., Guerranti C., Blašković A. 2018. Microplastic contents from maricultured and natural mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 131, A: 248-251
- WHO. 2022. Dietary and inhalation exposure to nano- and microplastic particles and potential implications for human health. Geneva, World Health Organization, <https://www.who.int/publications/i/item/9789240054608> (25. mar. 2025)

PROTIMIKROBNA AKTIVNOST EMBALAŽNIH FOLIJ S PREMAZOM HITOZANA IN KOMBINACIJO RASTLINSKIH IZVLEČKOV

Tina KRAJNC¹, Lidija FRAS ZEMLJIČ² in Sonja SMOLE MOŽINA³

Povzetek: K zmanjšanju vse večjega obremenjevanja okolja z odpadno embalažo lahko prispevajo biorazgradljivi materiali iz obnovljivih virov, npr. polimlečna kislina (PLA), kot osnova embalažne folije za razvoj aktivne embalaže za živila. Namen dela je bila izdelava bioaktivne živilske folije na osnovi PLA, ki smo jo dodatno funkcionalizirali z dvoslojnim premazom hitozana in rastlinskih izvlečkov fenolnih spojin za povečanje bioaktivnosti folij. Analize zeta potenciala, spektrov ATR-FTIR in analiza XPS so potrdile uspešen nanos hitozana in rastlinskih izvlečkov na folijo. Nato smo določili antioksidativno aktivnost folij s premazi z metodama ABTS in DPPH in potrdili zelo dobro antioksidativno aktivnost dodatka rastlinskih izvlečkov. Protimikrobno aktivnost folij smo testirali proti bakterijama *Escherichia coli* in *Pseudomonas fragi* ter proti glivam *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium verrucosum* ter *Aspergillus flavus*. Folije z nanosom hitozana in izvlečkov so bile protimikrobno aktivne proti vsem testiranim mikroorganizmom, učinkovitost pa je padala v enakem zaporedju, kot so navedeni tarčni mikroorganizmi. Proti nitastim glivam je bila učinkovitost med 40-99%, glede na vrsto uporabljene folije in testne glive.

Ključne besede: aktivna embalaža, fenolni izvlečki, funkcionalizirana folija, PLA, hitozan, protimikrobna aktivnost, antioksidativna aktivnost

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PACKAGING FOILS COATED WITH CHITOSAN AND COMBINATION OF PLANT EXTRACTS

Abstract: Biodegradable materials from renewable sources, such as polylactic acid (PLA) - as the basis of packaging film for the development of active food packaging - can contribute to reducing the environmental burden of packaging waste. The purpose of this work was to produce a biodegradable active food foil, where PLA was used as a base, on which a layer of chitosan and additional layer of plant phenolic extracts were applied for improving its bioactivity. The successful application of chitosan and plant extracts on PLA foil was confirmed by analyses of zeta potential, ATR-FTIR spectra and XPS analysis. The antioxidant activity of coated packaging foils was determined using the ABTS and DPPH methods, and highly increased antioxidant activity of the plant extracts coatings was confirmed. The antimicrobial activity of the foils was tested against bacteria *Escherichia coli* and *Pseudomonas fragi* and against the fungi *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus flavus*. The foils coated with chitosan and extracts expressed antimicrobial activity against all microorganisms tested, with efficacy decreasing in the same order as the target microorganisms are listed. Against filamentous fungi, the effectiveness was between 40-99%, depending on the type of foil used and the fungus as a target organism.

Keywords: active packaging, phenolic extracts, functionalized packaging foils, PLA, chitosan, antimicrobial activity, antioxidant activity

¹ MSc mikrob., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tina.kranjc@gmail.com

² prof. dr., Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo, Laboratorij za karakterizacijo in predelavo polimerov, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor, e-mail: lidija.fras@um.si

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

1 UVOD

Širitev in globalizacija trga povečujeta pomen embalaranja izdelkov in s tem embalažnih materialov, tako v smislu količine kot učinkovitosti. Osnovo večine embalažnih folij za živila zaradi svoje cenovne dostopnosti in dobrih mehanskih lastnosti predstavljajo petrokemični polimeri, ki so večinoma namenjeni enkratni uporabi. To predstavlja velik problem zaradi kratkoročnega in dolgoročnega onesnaževanja okolja. To dejstvo je glavna gonilna sila za razvoj in proizvodnjo novih materialov iz obnovljivih virov ter biorazgradljivih polimerov, med katere spada tudi polimlečna kislina (PLA) (Motelica in sod., 2020; Rodrigues in sod., 2021). PLA je zaradi svojih dobrih fizikalno-kemijskih lastnosti ena izmed najbolj obetavnih in okolju prijaznih polimerov. Poleg potrebe po razgradljivih materialih, ki bi zmanjšali problem obremenjevanja okolja z odpadno embalažo, je vse hitrejši tudi razvoj aktivne embalaže živil (Han in sod., 2018). Ta poleg konvencionalnih funkcij embalaže, kot je varovanje izdelka pred okoljskimi dejavniki in informiranje potrošnikov, upočasnjuje ali celo prepreči spremembe živila z aktivno interakcijo z njegovimi sestavinami. Tako ohranja kakovost in podaljšuje obstojnost izdelka. Na ta način pomaga tudi zmanjšati količine zavržene hrane. To dosežemo z dodatkom različnih snovi s protimikrobno in/ali antioksidativno aktivnostjo (Irkin in Esmer, 2015). Protibakterijsko, protiglivno in antioksidativno aktivnost embalažnih folij lahko dosežemo z dodajanjem različnih, tako naravnih kot sintetičnih snovi v ali na embalažno folijo. Veliko pozornosti se posveča hitozanu zaradi izjemnih protimikrobnih lastnosti (Potrč in sod., 2020; Flórez in sod., 2022; Zemljič in sod., 2022) ter uporabi fenolnih spojin ali rastlinskih izvlečkov kot njihovih naravnih mešanic, zaradi dobrih antioksidativnih in protimikrobnih učinkov. Hitozan in izvlečke lahko uporabimo v obliki dvoslojnega premaza folije PLA.

2 MATERIAL IN METODE

Cilji naloge so bili: a) pripraviti folije PLA z dvoslojnim premazom hitozana in izbranih kombinacij rastlinskih izvlečkov (spodnji premaz s hitozanom, zgornji z izvlečkom fenolnih spojin iz listov robide, iglic brina in/ali materiala po destilaciji eteričnega olja brina) oz. s kombinacijami izvlečkov); b) določiti nekatere izbrane fizikalno-kemijske lastnosti funkcionaliziranih folij PLA; c) določiti bioaktivnost funkcionaliziranih folij PLA (antioksidativno in protimikrobno aktivnosti proti izbranim mikroorganizmom, pomembnim za varnost in obstojnost živil). V tem delu kratko povzemamo testiranje bioaktivnosti funkcionaliziranih folij PLA.

2.1 DOLOČANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI FOLIJ

Antioksidativno aktivnost smo določili z metodo ABTS, s spektrofotometričnim določanjem zmanjšanja koncentracije radikala $ABTS^{+}$ pri valovni dolžini 734 nm. Razrezane koščke funkcionaliziranih folij smo prelili s 3,9 mL raztopine $ABTS^{+}$ (Krajnc, 2023). Meritve smo izvajali ob času 0, 15 in 60 minut in nato določili inhibicijsko sposobnost $ABTS^{+}$ z enačbo (1).

$$\text{Inhibicija radikala (\%)} = \frac{A_k - A_v}{A_k} \times 100 \quad \dots (1)$$

Pri čemer je:

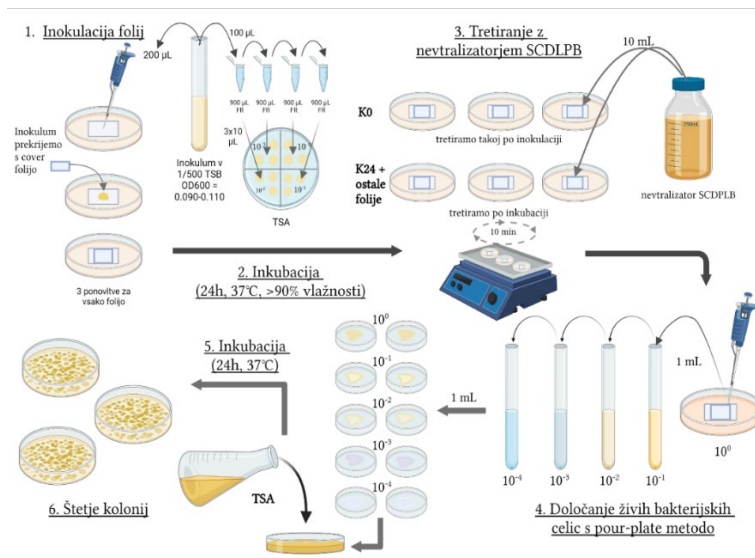
A_k – absorbanca začetne raztopine $ABTS^{+}$

A_v – absorbanca vzorca (funkcionalizirana folija)

Drugi način določanja antioksidativnosti smo izvedli z metodo DPPH, po Wu in sod., (2019), z nekaj modifikacijami (Krajnc, 2023). Za izračun inhibicije smo prav tako uporabili enačbo (1).

2.2 DOLOČANJE PROTIMIKROBNE AKTIVNOSTI FOLIJ

Za določanje protimikrobne aktivnosti funkcionaliziranih folij PLA smo uporabili modificirano različico standardne metode ISO 22196 (2007), ki jo grafično predstavlja slika 1.



Slika 1: Grafična shema poteka določanja protimikrobne aktivnosti po standardu ISO 22196:2007 (K0 – gola PLA folija takoj po inokulaciji, K24 – gola PLA folija, po inokulaciji, inkubirana 24 h.).

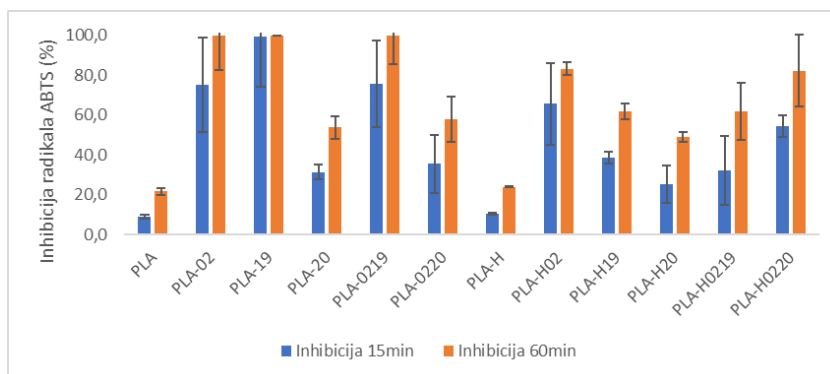
3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 REZULTATI FIZIKALNO-KEMIJSKIH LASTNOSTI FOLIJ

Za ovrednotenje uspešnega nanosa premazov na folijo PLA smo izvedli številne fizikalno-kemijske analize. Z meritvijo zeta potenciala in stičnih kotov smo zaznali uspešen nanos tako hitozana kot izvlečkov, a s prevladujočim karakterjem hitozana in tankim nanosom izvlečkov. Le-ti so kljub temu zmanjšali kontaktni kot in izboljšali omočljivost folij, kar je pomembno s praktičnega stališča, saj preprečuje kondenzacijo in rosenje embalaže. Z nanosom premazov smo nekoliko izboljšali tudi že sicer dobre barierne lastnosti PLA – za 6-9% se je zmanjšala prepustnost kisika, kar je za embalažno folijo ključnega pomena, saj lahko neposredno vpliva na obstojnost živila.

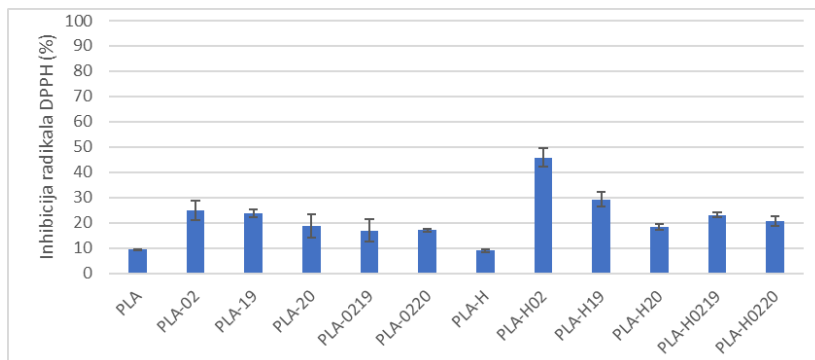
3.2 ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST FOLIJ

Rezultati testiranja antioksidativnosti so bili veliko boljši za folije s premazi kot pri referenčnih folijah PLA in PLA-H. Najboljše rezultate smo izmerili pri foliji PLA-19, premazani z izvlečkom iglic rdečeploдного brina, že po 15 min s 100 % inhibicijo radikala ABTS (slika 2).



Slika 2: Inhibicija radikala ABTS (v %, po 15 in 60 min) (PLA – neobdelana folija, 02 – izvleček listov robide, 19 – izvleček iglic rdečeploдного brina, 20 – izvleček odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina, 0219 – kombinacija izvlečkov lista robide in iglic rdečeploдного brina v razmerju 1:1, 0220 - kombinacija izvlečkov lista robide in odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina v razmerju 1:1, H – primarni visokomolekularni hitozan).

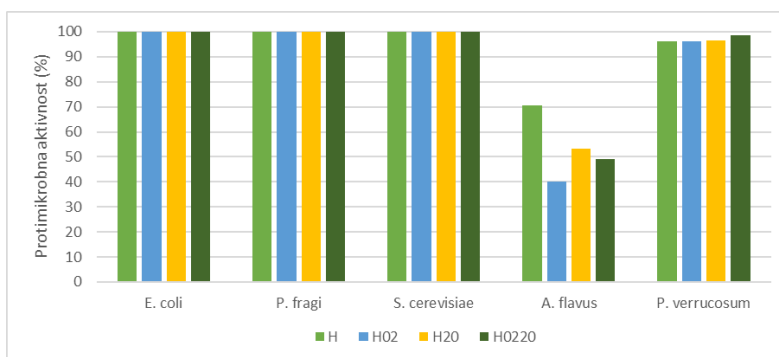
Med folijami z dvoslojnim premazom hitozana in izvlečkov je imela najboljšo antioksidativnost folija s hitozanom in izvlečkom lista robide (PLA-H02), med folijami z mešanico izvlečkov pa folija z izvlečkom lista robide in odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina (PLA-H0220). Tudi z metodo DPPH smo najboljši rezultat izmerili folijama PLA-02 in PLA-19, pri folijah z dvoslojnimi premazi pa folijama PLA-H02 in PLA-H19 (slika 3).



Slika 3: Inhibicija radikala DPPH (v %, 30 min) (PLA – neobdelana folija, 02 – izvleček listov robide, 19 – izvleček iglic rdečeploдного brina, 20 – izvleček odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina, 0219 – kombinacija izvlečkov lista robide in iglic rdečeploдного brina v razmerju 1:1, 0220 – kombinacija izvlečkov lista robide in odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina v razmerju 1:1, H – primarni visokomolekularni hitozan).

3.3 PROTIMIKROBNA AKTIVNOST FOLIJE

Vse folije z premazom hitozana in rastlinskih izvlečkov so izkazale boljši protimikrobni učinek kot folije samo z rastlinskimi izvlečki. Hitozan ima več mehanizmov delovanja, ki zagotavljajo uspešno protimikrobno delovanje, med katerimi je vzpostavljajanje elektrostatskih interakcij med kationskimi deli hitozana in anionskimi membranskimi komponentami eden izmed najpomembnejših mehanizmov (Yilmaz Atay, 2019). Zaradi interakcij med hitozanom in membrano lahko pride do spremembe v delovanju membrane, poveča se njena prepustnost, kar pa vodi v propad celice. Zunanja membrana po Gramu negativnih organizmov je sestavljena predvsem iz lipopolisaharidov, ki vsebujejo fosfatne in pirofosfatne skupine, zaradi katerih je prisotna velika gostota negativnih nabojev na površini bakterij (Goy in sod., 2009). Podoben učinek kot na bakterije ima hitozan tudi na kvasovke in plesni. Deluje bolj fungistatično kot fungicidno, prav tako omejuje kaljenje spor. Za uspešno protimikrobno delovanje je pomembna struktura celične stene (El-Hack in sod., 2020). Slika 4 prikazuje rezultate protimikrobne aktivnosti izbranih folij z dvoslojnimi premazi hitozana in rastlinskih izvlečkov (listov robide, odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina, ter njune kombinacije).



Slika 4: Protimikrobna aktivnost (%) izbranih funkcionaliziranih folij proti testiranim mikroorganizmom 02 – premaz z izvlečkom listov robide, 20 – premaz z izvlečkom odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina, 0220 – premaz s kombinacijo izvlečkov lista robide in odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja navadnega brina v razmerju 1:1, H – primarni visokomolekularni hitozan).

Folije z nanosom hitozana in izvlečkov so pokazale izjemno protimikrobno aktivnost proti obema testiranima bakterijama in kvasovki, proti plesnim so bile manj učinkovite, pri čemer je očitno, da je izražena protiglivična aktivnost močno odvisna predvsem od vrste tarčnega mikroorganizma (slika 4). Proti testiranima nitastima glivama je bila protiglivična učinkovitost med 40-99%, glede na vrsto uporabljene folije in testne glive.

4 ZAKLJUČEK

Funkcionalizirane folije kažejo dober potencial za uporabo v živilski industriji, vendar so potrebne številne optimizacije. Potrebno je optimizirati metodo nanašanja aktivnih snovi, ki bo omogočila nastanek čim bolj homogenih premazov. Izziv predstavlja ustrezno znižanje kontaktnega kota, kar bi lahko dosegli z optimizacijo formulacij ali z večjimi koncentracijami izvlečkov. Vendar je pri povečanju koncentracije izvlečkov potrebno biti pazljiv zaradi možnosti desorpcije le-teh s folije, kar je zakonsko omejeno, prav tako pa lahko vpliva na senzorične lastnosti živila. Potrebno je tudi vpeljati testiranje folij v razmerah, ki ustrezajo končnim pogojem uporabe (npr. v hladni verigi in zmanjšani relativni vlagi).

5 ZAHVALA

Raziskava je nastala v okviru projektov BioProMedFood (PRIMA ID 1467) in ARRS N4-0145 (SSM) in Nacionalnega programa P2-0118. Program PRIMA je podpirala Evropska unija.

6 VIRI

- El-Hack M. A. E., El-Saadony M. T., Shafi M. E., Zabermawi N. M., Arif M., Batiha G. E., Khafaga A.F., Al-Sagheer A. A. 2020. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 2726–2744. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>
- Flórez M., Guerra-Rodríguez E., Cazón P., Vázquez M. 2022. Chitosan for food packaging: Recent advances in active and intelligent films. *Food Hydrocolloids*, 124: 107328. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107328>
- Goy R. C., Britto D. de, Assis O. B. G. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19, 3: 241–247. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013>
- Han J.-W., Ruiz-Garcia L., 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. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- Irkin R., Esmer O. K. 2015. Novel food packaging system with natural antimicrobial agents. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 10: 6095–6111
- ISO 22196. Plastics - Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces. 2007
- Krajnc T. 2023. Protimikrobna aktivnost embalažnih folij s premazom hitozana in kombinacijo rastlinskih izvlečkov: Magistrsko delo. Ljubljana, Magistrski študijski program 2. stopnje Mikrobiologija, 61 str.
- Motelica L., Ficaí D., Ficaí A., Oprea O. C., Kaya D. A., Andronescu E. 2020. Biodegradable Antimicrobial Food Packaging: Trends and Perspectives. *Foods*, 9, 10. <https://doi.org/10.3390/foods9101438>
- Potrč S., Sterniša M., Smole Možina, S., Hrnčič K. M., Fras Zemljič. L. 2020. Bioactive characterisation of packaging foils coated by chitosan and polyphenol colloidal formulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 7: 2610, doi:10.3390/ijms21072610
- Rodrigues C., Souza V. G. L., Coelho I., Fernando A. L. 2021. Bio-Based Sensors for Smart Food Packaging- Current Applications and Future Trends. *Sensors*, 21, 6. <https://doi.org/10.3390/s21062148>
- Wu Z., Deng W., Luo J., Deng D. 2019. Multifunctional nano-cellulose composite films with grape seed extracts and immobilized silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 205: 447–455. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.060>
- Yilmaz Atay H. Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems. *Functional Chitosan* 2019. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15
- Zemljič Fras L., Glaser K. T., Plohl O., Anžel I., Šimat V., Čagalj M., Mežnar E., Malin V., Sterniša M., Smole Možina S. 2022. Biomass-derived plant extracts in macromolecular chitosan matrices as a green coating for PLA films. *Journal of Functional Biomaterials*, 13, 4: 228, doi:10.3390/jfb13040228

TVORBA BIOGENIH AMINOV V SUŠENIH SALAMAH MED SKLADIŠČENJEM PRI SOBNI TEMPERATURI

Marija Maja KRESNIK¹ in Lea DEMŠAR²

Povzetek: Namen magistrske naloge je bil proučiti vpliv temperature shranjevanja (4 °C, 15 °C in 22 °C) na tvorbo biogenih aminov v sušenih salamah, pri čemer smo se osredotočali na fizikalno-kemijske parametre (aktivnost vode (a_w) in pH) in biokemične spremembe (tvorba šestih biogenih aminov) med shranjevanjem. V poskusu smo uporabili Primorske domače salame, izdelane z zaščitnimi starterskimi kulturami (*Staphylococcus carnosus* in *Staphylococcus xylosus*). V tehnološki zrelosti (izguba mase cca. 42 %) smo vzorčili dvajset salam in jih razdelili v skupine za takojšnjo analizo (kontrola) ali pa smo jih namenili za 120-dnevno skladiščenje pri 4 °C, 15 °C in 22 °C. Analize so vključevale instrumentalno merjenje osnovne kemijske sestave (bližnja infrardeča spektroskopija), barve s kromometrom, vrednosti pH in a_w in senzorično deskriptivno analizo. Vsebnost biogenih aminov smo določili z derivatizacijo in LC-MS, vsebnost peroksidov in tiobarbiturne kisline pa spektrofotometrično. Študija je pokazala, da so sušene salame v povprečju vsebovale 29,03 g beljakovin, 33,06 g maščobe, 26,77 g vode in 4,27 g soli na 100 g salame. Vrednosti a_w in pH kažejo na mikrobiološko stabilnost salam. Pri višjih temperaturah skladiščenja (15 °C in 22 °C) je poleg procesov oksidacije lipidov in poslabšanja senzoričnih lastnosti prišlo do povečanega nastajanja biogenih aminov, med aminami pa so prevladovali histamin, putrescin in kadaverin. Ugotovili smo, da je sušene salame priporočljivo skladiščiti pri temperaturah pod 10 °C, saj se lahko že pri sobni temperaturi 15 °C predvsem pa pri visoki sobni temperaturi 22 °C, kot je bila v našem poskusu, lahko opazijo negativni učinki na kakovost in povečana tvorba biogenih aminov.

Ključne besede: biogeni amini, sušene salame, skladiščenje, sobna temperatura

FORMATION OF BIOGENIC AMINES IN DRY FERMENTED SALAMI DURING STORAGE AT ROOM TEMPERATURE

Abstract: This study investigates the effect of storage temperature (4 °C, 15 °C, and 22 °C) on the formation of biogenic amines in dry fermented salami, focusing on physicochemical parameters (water activity (a_w) and pH) and biochemical changes (formation of six biogenic amines) during storage. Homemade Primorska salamis, produced with protective starter cultures (*Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus xylosus*), were used for the experiment. After ripening (with an approximate 42% mass loss), twenty salamis were sampled and divided into groups for immediate analysis (control) or for 120-day storage at 4 °C, 15 °C, and 22 °C. The analyses included instrumental measurements of basic chemical composition (using near-infrared spectroscopy), colour (measured with a chromameter), pH and a_w values, as well as sensory descriptive analysis. The content of biogenic amines was determined via derivatization and LC-MS, while peroxide and thiobarbituric acid levels were assessed spectrophotometrically. The study showed that dry fermented salami contained, on average, 29.03 g of protein, 33.06 g of fat, 26.77 g of water, and 4.27 g of salt per 100 g. The a_w and pH values indicated microbiological stability. However, at higher storage temperatures (15 °C and 22 °C), in addition to lipid oxidation processes and a decline in sensory properties, there was an increased formation of biogenic amines, particularly histamine, putrescine, and cadaverine. Based on these findings, it is recommended that dry fermented salami be stored at temperatures below 10 °C, as negative effects on quality and increased biogenic amine formation were already observed at 15 °C and became especially pronounced at high room temperature, such as 22 °C in this study.

Keywords: biogenic amines, dry salami, storage, room temperature

¹ mag inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, maja.kresnik5@gmail.com

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, lea.demsar@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Nekatere raziskave poudarjajo negativen vpliv visoke temperature skladiščenja na kakovost in varnost sušenih salam, zlasti v zvezi s tvorbo biogenih aminov (Bover-Cid in sod., 2001; Komprda, 2001, 2004; Kamenik in sod., 2012; Ikonik in sod., 2019; Liu in sod., 2023). Povišane temperature skladiščenja nad 15 °C ustvarjajo ugodne pogoje za rast mikroorganizmov, vključno z bakterijami, kvasovkami in plesnimi. Take razmere lahko privedejo do pojavov kvara, kot so vidne kolonije, neprijeten vonj, nastajanje plinov in sluzi ter spremembe barve. Omenjene spremembe prispevajo k poslabšanju kakovosti izdelka in posledično skrajšajo njegov rok uporabnosti. Različni dejavniki, vključno s tehnologijo barier, zmanjšanjem aktivnosti vode (a_w) in vlage, povečano slanostjo, prisotnostjo nitritov in kolonizacijo s specifičnimi nepatogenimi, a tehnološko pomembnimi mikroorganizmi, lahko pomagajo upočasniti rast nezaželenih mikroorganizmov in ohraniti kakovost posušenih salam. Kljub tem zaščitnim ukrepom pa višje temperature skladiščenja, zlasti nad 15 °C, spodbujajo proteolitične in dekarboksilacijske reakcije (Bover-Cid in sod., 2001). Predvsem aktivnost mikrobnih dekarboksilaz pri teh temperaturah lahko povzroči povečano tvorbo nekaterih biogenih aminov, kot so tiramin, 2-feniletilamin, triptamin, kadaverin, putrescin in histamin (Suzzi in sod., 2003). Medtem ko so biogeni amini bistveni za življenje, pa so lahko njihove prevelike količine škodljive za človeško telo in povzročajo stranske učinke, kot so glavoboli, kožni izpuščaji in slabost. Vzdrževanje ustreznih pogojev skladiščenja, predvsem nadzor temperature, je ključnega pomena za preprečevanje pospešenega nastajanja biogenih aminov ter zagotavljanje kakovosti in varnosti sušenih salam (Schirone in sod., 2022).

Cilj te raziskave je bil pojasniti vpliv temperature skladiščenja (4 °C, 15 °C in 22 °C) na aminogenezo (nastanek biogenih aminov) v suhih salamah. Preučevali smo fizikalno-kemijske (aktivnost vode in pH) ter biokemijske spremembe (nastanek devetih biogenih aminov: triptamin, feniletilamin, putrescin, kadaverin, histamin, agmatin, tiramin, spermidin in spermin) med skladiščenjem. Pridobljene ugotovitve bodo služile za utemeljitev zahteve, da naj se sušene salame ne tržijo na prodajnih policah, kjer temperatura okolice pogosto doseže temperature višje od 15 °C, večinoma celo nad 22 °C (Komprda in sod., 2001), ampak v hladilnikih.

2 MATERIAL IN METODE

Poskus smo izvedli s Primorsko domačo salamo, narejeno iz prašičjega plečeta, slanine, morske soli, dekstroze, natrijevega askorbata in nitrita ter začimb, začimbni ekstraktov in zaščitnih starterskih kultur (*Staphylococcus carnosus* in *Staphylococcus xylosus*). V tehnološki zrelosti (izguba mase okoli 42 %) smo vzorčili 20 sušenih salam, po pet salam iz štirih proizvodnih ponovitev. Vsako salamo smo razrezali na štiri dele in vsak del posebej vakuumsko zapakirali. Z naključnim izborom smo dele salam porazdelili v skupine: skupino, ki je bila namenjena takojšnjim analizam (kontrola), in tri skupine, namenjene 120-dnevnom skladiščenju pri temperaturah 4 °C, 15 °C in 22 °C.

Četrtnke dvajsetih salam, ki so bile z naključnim izborom namenjene takojšnjim analizam, smo posamično homogenizirali in z bližnjo infrardečo spektroskopijo (ang. Near Infrared Spectroscopy, NIR) izmerili osnovno kemijsko sestavo. Pred homogenizacijo smo na rezinah četrtnk salam še instrumentalno izmerili barvo s kromametrom (Minolta CR-400) in opravili senzorično deskriptivno analizo. Na homogeniziranih četrtnkah salam smo ponovno instrumentalno izmerili barvo ter vrednosti pH (SIST ISO 2917: 2000) in a_w (SIST ISO 18787: 2017). Za določitev vsebnosti biogenih aminov smo izvedli derivatizacijo aminokislin, jih rekonstruirali ter analizirali z LC-MS. Peroksidno število in število tiobarbiturne kisline v vzorcih smo določili spektrofotometrično. Na četrtnkah salam, ki so bile namenjene skladiščenju pri različnih temperaturah (4 °C, 15 °C in 22 °C), smo po 120 dnevih ponovili analize v enakem vrstnem redu kot pri skupini, namenjeni takojšnjim analizam (kontrola).

3 REZULTATI

V našem poskusu so sušene salame (kontrola) v 100 g v povprečju vsebovale 29,03 g beljakovin, 33,06 g maščob, 26,77 g vode in 4,27 g soli. Koeficient variabilnosti je bil največji za maščobe in sol (11 %), ostali parametri pa so bili dokaj konstantni (nizek koeficient variabilnosti). Salame v poskusu so bile stabilne, saj so vse dosegle

vrednost a_w enako ali pod 0,89 (najnižja 0,708 in najvišja 0,847), povprečna vrednost pH salam pa je bila relativno visoka 6,35, med 5,94 in 6,81.

Z analizami smo pridobili podatke o tvorbi šestih biogenih aminov (triptamin (TRYP), feniletilamin (PHE), putrescin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HIS) in tiramin TYR)) med 120-dnevnim skladiščenjem sušenih salam in z njimi potrdili povečano tvorbo biogenih aminov v sušenih salamah, skladiščenih 120 dni pri višjih temperaturah (15 °C in 22 °C) v primerjavi s salamami, skladiščenimi pri nižjih temperaturah (4 °C). V kontrolnih vzorcih je bilo 1622,75 mg skupnih biogenih aminov/kg s.v., v salamah, skladiščenih 120 dni pri 15 °C je bila vsebnost več kot dvakrat večja, 3508,66 mg/kg s.v., v salamah, skladiščenih 120 dni pri 22 °C pa več kot trikrat večja, 4529,74 mg/kg s.v.. Povečala se je vsebnost vseh opazovanih biogenih aminov, prevladovali pa so histamin, putrescin in kadaverin (Preglednica 1).

Preglednica 1: Vpliv pogojev 120-dnevnega skladiščenja na vsebnost biogenih aminov v salamah ($n = 40$)

Parameter	Vrednost lastnosti glede na pogoje skladiščenja (povprečje $\pm$ se)			
	kontrola	4 °C	15 °C	22 °C
CAD (mg/kg s.v.)	72,36 $\pm$ 5,16 ^b	84,14 $\pm$ 7,78 ^b	406,24 $\pm$ 107,86 ^a	528,46 $\pm$ 133,88 ^a
HIS (mg/kg s.v.)	966,55 $\pm$ 33,45 ^c	1048,08 $\pm$ 35,12 ^c	1837,73 $\pm$ 71,17 ^b	2729,09 $\pm$ 117,73 ^a
PHE (mg/kg s.v.)	72,39 $\pm$ 6,68 ^c	209,26 $\pm$ 15,44 ^b	351,79 $\pm$ 13,33 ^a	348,87 $\pm$ 18,37 ^a
PUT (mg/kg s.v.)	444,27 $\pm$ 8,60 ^c	527,82 $\pm$ 11,48 ^b	788,02 $\pm$ 17,96 ^a	769,75 $\pm$ 29,36 ^a
TRYP (mg/kg s.v.)	42,82 $\pm$ 1,35 ^d	57,96 $\pm$ 2,34 ^c	77,06 $\pm$ 1,93 ^b	107,99 $\pm$ 5,57 ^a
TYR (mg/kg s.v.)	24,37 $\pm$ 1,17 ^c	35,55 $\pm$ 2,54 ^b	47,82 $\pm$ 2,82 ^a	45,57 $\pm$ 2,50 ^a
skupni BA (mg/kg s.v.)	1622,75 $\pm$ 42,00 ^c	1962,80 $\pm$ 58,01 ^c	3508,66 $\pm$ 121,26 ^b	4529,74 $\pm$ 229,89 ^a
peroksidno število (mmol/kg)	<0,01 $\pm$ <0,01 ^c	0,18 $\pm$ 0,09 ^b	0,38 $\pm$ 0,07 ^a	0,24 $\pm$ 0,05 ^{ab}
število TBK (mg MDA/kg)	0,14 $\pm$ 0,01 ^b	0,23 $\pm$ 0,03 ^a	0,16 $\pm$ 0,01 ^b	0,15 $\pm$ 0,01 ^b

n , število meritev na skupino; se , standardna napaka ocene; vrednosti z različno nadpisano črko (^{a-d}) znotraj parametra in vrstice se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$, razlike med pogoji skladiščenja)

Skladiščenje salam pri višjih temperaturah (15 °C in 22 °C) je negativno vplivalo na procese oksidacije lipidov in posledično na kakovost sušenih salam: peroksidno število je bilo značilno višje kot pri nižjih temperaturah skladiščenja (4 °C), vrednosti za število TBK niso presegle 1 mg MDA/kg, ki napoveduje senzorično zaznavno žarkost, zaznaven pa je bil pojav tujih arom (Preglednica 1). Skladiščenje salam pri višjih temperaturah (15 °C in 22 °C) je negativno vplivalo tudi na senzorično oceno salam: značilno sta se poslabšala vonj in aroma, predvsem zaradi pojava tujih vonjev (po kvasu, po gnilem kislem zelju, po kvaru) in tujih arom (po grenkem, po kvasu, po gnilem kislem zelju, po gnilem, pokvarjenem ali po nedoločenem) ter zaradi kvara treh vzorcev (ni prikazano v preglednicah).

4 ZAKLJUČEK

Proizvodnja sušenih fermentiranih salam je zapleten proces, ki v katerem se spreminjajo notranji (pH, a_w , Eh, vsebnost nitratov, izguba mase) in zunanji parametri (temperatura, relativna vlažnost, hitrost zraka, čas zorenja, prisotnost plesni, dimljenje; Feiner, 2006). Sušene salame so mikrobiološko stabilni izdelki, vendar so omejitveni dejavniki roka uporabnosti oksidacija maščobe, sušenje, svetloba, visoka temperatura in tvorba biogenih aminov (Komprda in sod., 2004; Kameník in sod., 2012). Naša raziskava je pokazala, da je skladiščenje salam pri temperaturah nad 15 °C problematično zaradi povečane koncentracije histamina (in nevarno povečane koncentracije tiramina), kar lahko predstavlja tveganje za občutljive posameznike (EFSA, 2011). Najbolj priporočljiva temperatura skladiščenja je do 10 °C. Za trgovce zato predlagamo, da sušenih salam ne shranjujejo in ponujajo izven hladilnih komor, sploh pa ne na prodajnih policah in v prostorih, kjer temperature lahko presežejo 15 °C in celo več kot 22 °C, kajti s tem zagotavljajo obvladovanje ne le tvorbe biogenih aminov pač pa tudi procesov oksidacije na maščobnih komponentah, barvilu in proteinih ter mikrobiološki kvar. Na podlagi ugotovitev tudi drugih raziskovalcev (Kameník in sod., 2012; Tasić in sod., 2012) proizvajalcem priporočamo, da v cilju doseganja z vidika biogenih aminov varnih sušenih salam v celoti upoštevajo načela dobre higienske prakse v vseh fazah tehnološkega procesa ter poleg tehnologije ovir (parametri fermentacije in sušenja, toplo izkoščeno

meso, vrsta črev oz. ovitkov, vrednost pH, vsebnost soli in sladkorja, premer salame in redoks potencial, aditivi, temperatura in relativna vlažnost) uporabljajo pri izdelavi salam nepatogene in tehnološko pomembne mikroorganizme z omejeno dekarboksilazno aktivnostjo (ne enterobakterij in psevdomonasov, ker imajo sposobnost aminogeneze) ter tako preprečijo povečano koncentracijo biogenih aminov med sušenjem ali zorenjem, distribucijo ali skladiščenjem in prodajo, kjer temperature pogosto presežejo 15 °C.

5 VIRI

- Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal Carou M. C. 2001. Changes in biogenic amine and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Science*, 57: 215-221.
- Feiner G. 2006. *Meat products handbook: Practical science and technology*. Cambridge, Woodhead Publishing Limited
- Ikonić P., Jokanovic M., Peulic T., Cucevic N., Tomicic Z., Skaljic S., Ivic M. 2019. Evolution of amino acids and biogenic amines in traditional dry-fermented sausage Sjenički sudžuk during processing. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 333: 012021.
- Kameník J., Saláková A., Bořilová G., Pavlík Z., Standarová E., Steinhauser L. 2012. Effect of storage temperature on the quality of dry fermented sausage Poličan. *Czech Journal of Food Science*, 30: 293–301
- Komprda T., Nežnalová J., Standara S., Bover-Cid S. 2001. Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage Poličan. *Meat Science*, 59: 267-276.
- Komprda T., Smělá D., Pechová P., Kalhotka L., Stencl J., Klejdus B. 2004. Effect of starter culture, spice mix and storage time on biogenic amine content of dry fermented salamis. *Meat Science*, 67: 607-616.
- Liu Y., He Y., Li H., Jia D., Fu L., Chen J., Zhang D., Wang Y. 2023. Biogenic amines detection in meat and meat products: the mechanisms, applications, and future trends. *Journal of Future Foods*, 4, 1: 21-36,
- Schirone M., Esposito L., D'Onofrio F., Visciano P., Martuscelli M., Mastrocola D., Paparella A. 2022. Biogenic amines in meat and meat products: A review of the science and future perspectives. *Foods*, 11, 6: 788.
- Suzzi G., Gardini F. 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 41-54.
- Tasić T., Ikonić P., Petrović P. 2012. Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage Petrovská klobása as possible indicator of good manufacturing practice. *Food Control*, 23: 107-112.

VPLIV PROTEAZNE AKTIVNOSTI BAKTERIJ *PSEUDOMONAS* NA PREŽIVETJE IN RAST PATOGENIH BAKTERIJ, PRENOSLJIVIH S HRANO

Sonja MARGUČ¹, Mojca KUHAR², Tomaž POLAK³, Sonja SMOLE MOŽINA⁴ in Meta STERNIŠA⁵

Povzetek: Kvar hrane je pomemben globalen problem. V primeru hitro pokvarljivih živil, kot so npr. meso, ribe in mleko, so zelo pomembni tudi mikroorganizmi, ki lahko pridejo v stik s hrano ter z rastjo in metabolno aktivnostjo povzročijo kvar. Bakterije rodu *Pseudomonas* veljajo za pomembne kvarljivce, ki izločajo hidrolitične encime, s katerimi povzročajo senzorično zaznavne spremembe na živilih, sebi pa zagotavljajo dodatna hranila. V nalogi smo raziskovali proteazno aktivnost bakterij *Pseudomonas* iz različnih vrst pokvarjenega mesa, ki je bila sevno specifična ter odvisna od rastnega medija in temperature okolja. Najbolj proteazno aktiven sev, *Pseudomonas lundensis* PD15, smo uporabili za pripravo izrabljenega homogenata piščančjega mesa. Z njim smo preverili vpliv na rast izbranih patogenih bakterij, kjer smo ugotovili pozitiven vpliv na rast bakterij *Campylobacter jejuni* in *Salmonella* Typhimurium. Rezultati analize aminokislinske sestave svežega in neizrabljenega homogenata mesa nakazujejo, da je to najverjetneje omogočilo povečano rast teh bakterij. Da bi potrdili vpliv proteaznega delovanja bakterij *Pseudomonas* na boljše preživetje patogenih bakterij direktno na živilih, bi na le-teh bilo potrebno izvesti dodatna testiranja.

Ključne besede: proteazna aktivnost, *Pseudomonas*, kvarjenje mesa, *Campylobacter jejuni*, aminokisline

THE EFFECT OF *PSEUDOMONAS* PROTEOLYSIS ACTIVITY ON THE SURVIVAL AND GROWTH OF FOODBORNE PATHOGENIC BACTERIA

Abstract: Food spoilage is a major problem worldwide. For perishable foods such as meat, fish and milk, microorganisms that come into contact with the food and can cause spoilage during storage through growth and metabolic activity are also very important. Bacteria of the genus *Pseudomonas* are considered important spoilage organisms that secrete hydrolytic enzymes that cause sensory changes in food and provide themselves with additional nutrients. In this work, we investigated the protease activity of *Pseudomonas* bacteria from different types of spoiled meat, which was strain-specific and dependent on the growth medium and ambient temperature. The most protease-active strain, *Pseudomonas lundensis* PD15, was used to produce spent chicken meat homogenate. We used it to test the effect on the growth of selected pathogenic bacteria and found a positive effect on the growth of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* Typhimurium. The results of the analysis of the amino acid composition of fresh and unused meat homogenate indicate that this most likely enabled increased growth of these bacteria. Further testing would be required to confirm the effect of the protease activity of *Pseudomonas* bacteria on the enhanced survival of pathogenic bacteria directly on food.

Keywords: protease activity, *Pseudomonas*, meat spoilage, *Campylobacter jejuni*, aminoacids

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana

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

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

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

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

1 UVOD

Kvar hrane je pomemben globalen problem. V primeru hitro pokvarljivih živil, kot so npr. meso, ribe in mleko, so zelo pomembni tudi mikroorganizmi, ki lahko pridejo v stik s hrano ter tekom shrambe z rastjo in metabolno aktivnostjo povzročijo kvar. Za te skupine živil je značilna visoka vsebnost vode in beljakovin ter nevtralen ali rahlo kisel pH, kar predstavlja ugodno okolje za rast mikroorganizmov (Raposo in sod., 2017). Sam razvoj mikrobiote tekom shranjevanja živil poleg notranjih dejavnikov določajo tudi zunanji, kjer imata zelo velik vpliv temperatura in atmosfera, ter implicitni dejavniki, kamor spadajo npr. mikrobne interakcije.

Med kvarljivce mesa spadajo bakterije rodov *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Flavobacterium* in *Psychrobacter* (Gram in sod., 2002), katerih skupna lastnost je zmožnost rasti pri hladilniških temperaturah shranjevanja mesa. Ti predstavljajo le majhen delež začetne mikrobiote mesa in njihova številčnost se poveča tekom shrambe. Najpogostejše opisana skupina so zagotovo bakterije rodu *Pseudomonas*. Za te je značilno, da začnejo po porabi enostavnih ogljikovih hidratov porabljati proste aminokisline in druge dušikove snovi. Nato pa začnejo tvoriti proteolitične, lahko tudi lipolitične encime, ki jim zagotavljajo hranila (Erkmen in Faruk Bozoğlu, 2016), a hkrati povzročijo tudi senzorično zaznavne spremembe na živilih – kvarjenje. Najpogostejše vrste iz rodu *Pseudomonas*, ki povzročajo kvar hlajenih hitro pokvarljivih živil, so *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas lundensis* in *Pseudomonas putida*. Za preučevanje kvara, povzročenega z bakterijami iz rodu *Pseudomonas*, je zelo pomembno, da se preučuje na nivoju sevov, saj se ti med seboj zelo razlikujejo po potencialu za kvar in zmožnosti za rast na določenih substratih (Wickramasinghe in sod., 2019).

2 PROTEAZNA AKTIVNOST BAKTERIJ *PSEUDOMONAS*

Bakterije rodu *Pseudomonas* so sposobne v okolje izločati zunajcelične hidrolitične encime, tudi proteaze. Le-te jim omogočajo boljši dostop do hranil v primerjavi z neproteolitičnimi psihrotrofi (npr. bakterije rodu *Brochothrix*). Taksonomsko zelo sorodni sevi *Pseudomonas* se lahko v proteolitični sposobnosti in posledično v potencialu povzročitve kvara med sabo zelo razlikujejo (Maier in sod., 2020). Na produkcijo proteaz posameznih vrst in sevov vplivajo fiziološki in okoljski dejavniki, vključno s fizikalno-kemijskimi spremembami v mediju (Maier in sod., 2020; Wickramasinghe in sod., 2019). Najbolj proučena proteaza bakterij *Pseudomonas* je proteaza AprX, ni pa edina proteaza, ki jo ta skupina bakterij izloča.

V magistrskem delu smo izbranim izolatom iz pokvarjene svinjine, piščančjega in ribjega mesa določili proteazno aktivnost na mlečnem agarju in homogenatu mesa ter prisotnost gena *aprX*.

- Za mlečni agar smo pripravili hranilni agar in mu po avtoklaviranju dodali trajno mleko s 3,5 % mlečne maščobe (2 %). Posamezno kolonijo izbranih sevov smo razmazali po površini agarja in po inkubaciji pri temperaturah 5 °C, 15 °C in 30 °C 3 dni ovrednotili prisotnost cone zbistritve.
- Za vsak sev smo pripravili homogenat mesa iz mesa, iz katerega je bil izoliran. Uporabili smo svinjino, piščančje in ribje meso. Meso smo homogenizirali z raztopino fosfatnega pufra (20 %) in avtoklavirali (Sterniša in sod., 2019). Homogenate mesa smo inokulirali z izbranimi sevi in jih inkubirali pri temperaturah 5 °C, 15 °C in 30 °C 3 dni. Po inkubaciji smo ovrednotili proteazno aktivnost z azokazeinsko metodo (Benitez in sod., 2001). Z izmerjenimi absorbcami smo izračunali azokazeinske enote (AE) po enačbi (1).

$$AE = \frac{OD_{vzorec} - OD_{negativna kontrola}}{0,01} \quad \dots (1)$$

- Za določanje gena *aprX* smo za izvedbo PCR reakcije po izolaciji DNA izbranih sevov uporabili oligonukleotidna začetnika Pse_AprXF1 in Pse_AprXR1 z nukleotidnimi zaporedji 5'-CAGACCCTGACCCACGARATCGG-3' in 5'-TGAGGTTGATCTTCTGGTTCTGGG-3' (Andreani in sod., 2016).

Rezultati so predstavljeni v Preglednici 1. Za vse smo določili proteazno aktivnost na mlečnem agarju pri vseh treh temperaturah, gen *aprX* pa ni bil prisoten pri izolatu *P. lundensis* PD15. V homogenatu mesa po treh dneh

smo proteazno aktivnost pri vseh treh temperaturah določili samo pri izolatu *P. lundensis* PD15, ki je imel največjo aktivnost pri temperaturi 15 °C. Izolata *P. fragi* CC180 in PD03 sta bila v teh pogojih manj proteazno aktivna.

Preglednica 1: Izbrani izolati bakterij rodu *Pseudomonas*, določena proteazna aktivnost na mlečnem agarju (bela) in v homogenatu mesa (siva) ter prisotnost gena *aprX*.

Izolat	Izvor	Proteazna aktivnost ^a			Prisotnost <i>aprX</i>
		5 °C	15 °C	30 °C	
<i>P. fragi</i> CC180	Pokvarjeno ribje meso	+	+	+	+
		n.d.	7,10 ± 3,00	12,60 ± 3,34	
<i>P. fragi</i> PD03	Pokvarjena svinjina	+	+	+	+
		6,53 ± 2,28	n.d.	7,87 ± 1,88	
<i>P. lundensis</i> PD15	Pokvarjeno piščančje meso	+	+	+	-
		3,97 ± 1,36	27,30 ± 4,73	8,17 ± 2,38	

^a +, prisotna proteazna aktivnost na mlečnem agarju; n.d., ni bila ugotovljena proteazna aktivnost v homogenatu mesa

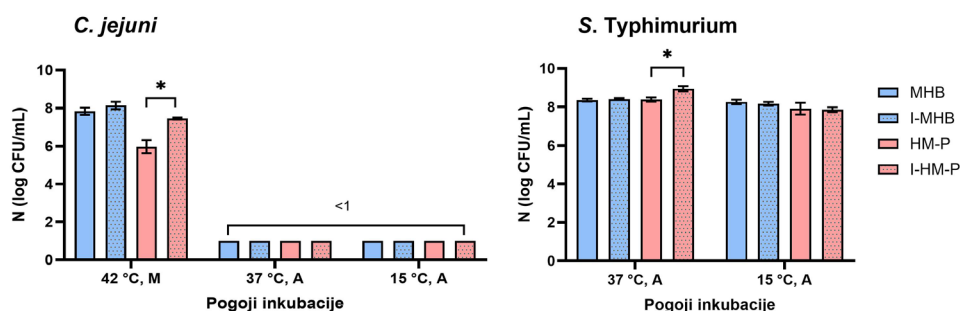
Za nadaljnje delo smo izbrali sev *P. lundensis* PD15, ki je imel določeno največjo proteazno aktivnost v homogenatu piščančjega mesa pri 15 °C. Te pogoje smo uporabili v poskusih za določanje pomena proteazne aktivnosti za izbrane patogene bakterije.

3 VPLIV IZRABLJENIH GOJIŠČ BAKTERIJ PSEUDOMONAS NA RAST PATOGENIH BAKTERIJ

Poleg kemijskih in fizikalnih okoljskih dejavnikov v nekaterih situacijah selekcijo, metabolizem in morebitni kvar determinirajo interakcije med prisotnimi mikroorganizmi. Te so lahko pozitivne, negativne ali nevtralne (Freilich in sod., 2011). Interakcije so pomembna strategija za kolonizacijo populacije in obstanek te v različnih okoljih (Braga in sod., 2016). Bakterije *Pseudomonas* so lahko v interakcijah z ostalimi bakterijami zelo kompetitivne, lahko pa z drugimi ustvarjajo metabiozo z ustvarjanjem ugodnih pogojev za druge organizme (Gram in sod., 2002). Tako je npr. poznano, da bakterije *Pseudomonas* porabijo kisik in ustvarijo mikroaerofilne ali celo anaerobne pogoje, ki so ugodni za mikroorganizme, občutljive na kisik (Hilbert in sod., 2010).

Bakterije rodu *Pseudomonas* si s proteazno aktivnostjo zagotavljajo hranila. Te bi lahko izkoriščali tudi drugi prisotni mikroorganizmi. V nalogi nas je zanimalo, kako izrabljeno gojišče bakterije *Pseudomonas* vpliva na rast izbranih patogenih bakterij. Pripravili smo dva izrabljena rastna medija (Müller Hinton bujon (MHB), homogenat piščančjega mesa) seva *P. lundensis* PD15. Po inokulaciji medijev in inkubaciji pri temperaturi 15 °C 3 dni smo vzorce filtrirali (velikost por 0,2 µm) in tako pridobili izrabljena rastna medija. Z azokazeinsko metodo smo določili proteazno aktivnost. Nadalje smo ju uporabili za inokulacijo z izbranimi patogenimi bakterijami – po Gramu pozitivni bakteriji *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 in *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ter po Gramu negativni bakteriji *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 in *Campylobacter jejuni* NCTC 11168. Te smo nato inkubirali pri temperaturi 15 °C in 37 °C v aerobnih pogojih ter bakterijo *C. jejuni* dodatno še pri temperaturi 42 °C v mikroaerofilni atmosferi 3 dni. Po inkubaciji smo določili število kultivabilnih bakterij v planktonski in biofilmski obliki.

Vpliva na planktonske celice po Gramu pozitivnih bakterij ni bilo, prav tako ne na biofilmske celice bakterije *L. monocytogenes*. V primeru biofilmskih celic bakterije *S. aureus* je bilo njihovo število zmanjšano ob uporabi izrabljenih gojišč. V primeru po Gramu negativnih bakterij je bilo število planktonskih celic v izrabljenem homogenatu mesa izrazito povečano in do te spremembe ni prišlo pri uporabi izrabljenega bogatega gojišča MHB (Slika 1). Za določeno število biofilmskih celic ni bilo razlik med svežim in izrabljenim rastnim medijem. To je smiselno, saj so planktonske celice v izrabljenih medijih suspendirane ali plavajo, kar jim omogoča, da prevzemajo proste aminokisline, ki so v vodnih okoljih tudi topne (Ji in Feng, 2008).



Slika 1: Število planktonskih celic (N) bakterij *Campylobacter jejuni* (levo) in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (desno) po 3-dnevni inkubaciji pri temperaturah 37 °C in 15 °C v aerobnih (A) pogojih za obe bakteriji in pri temperaturi 42 °C v mikroaerofilnih (M) pogojih za *C. jejuni* v dveh različnih rastnih medijih – Müller Hinton bujon (MHB) in homogenatu piščančjega mesa (HM-P) v primerjavi med svežim rastnim medijem in izrabljenim (I) medijem po 3-dnevni inkubaciji z bakterijo *Pseudomonas lundensis* PD15 pri temperaturi 15 °C. *, $p < 0,05$.

3.1 AMINOKISLINSKA SESTAVA

Aminokislina so pomemben vir hranil za bakterije. Z izločanjem in delovanjem proteaz si bakterije tudi same zagotavljajo hranila. Z določanjem aminokislinske sestave svežega in izrabljenega homogenata mesa smo želeli preveriti morebitno spremembo v aminokislinski sestavi, ki bi nakazovala na ugodnejšo sestavo za rast predvsem bakterije *C. jejuni*, kjer je bil ugotovljen največji vpliv na rast planktonskih celic. Vsebnost prostih aminokislin smo določili s kombinacijo ekstrakcije in derivatizacije z n-propil kloroformatom. Za separacijo in kvantifikacijo derivatov smo uporabili reverzno fazno UPLC–MS/MS metodo. Uporabljen je bil kromatografski sistem UPLC™ ACQUITY™ H-Class PLUS, tandemsko povezan z masnim spektrometrom Xevo TQ-S (Waters, Milford, MA, ZDA).

V izrabljenem gojišču se je zmanjšala količina večine določenih aminokislin, a v večini je šlo le za nekaj odstotno zmanjšanje. Izstopala je le poraba aminokislina arginin, katere količina se je zmanjšala iz $158,20 \pm 5,05 \mu\text{M}$ na $1,95 \pm 0,17 \mu\text{M}$. Arginin velja za pomembnejšo aminokislino za bakterije *Pseudomonas* v primeru prilagoditev neoptimalnim pogojem za njihovo rast (Kolbeck in sod., 2021). V izrabljenem rastnem mediju se je povečala koncentracija aminokislin cistein, triptofan, ornitin, glutamin in metionin. Bakterija *C. jejuni* se za polnjenje centralnega metabolizma zanaša na prevzem aminokislin iz okolja, kjer se kot ključne aminokislina opisuje aspartat, glutamat, prolin in serin (Stahl in sod., 2012), a ne sme se zanemariti pomena drugih aminokislin. Za bakterije *C. jejuni* je bilo ugotovljeno da:

- je sev *C. jejuni* NCTC 11168 avksotrofičen za aminokislina cistein in metionin (Alazzam in sod., 2011), ki tudi povečata fitnes teh bakterij (Gao in sod., 2017).
- aminokislina cistein in triptofan vzpodbudita respiracijo in povečata fitnes celic (Vorwerk in sod., 2014) ter veljata za kemoatraktanta (Khanna in sod., 2006).

4 ZAKLJUČEK

Kvarljivci iz rodu *Pseudomonas* lahko zaradi velike razširjenosti v okolju kontaminirajo širok nabor živil in s kvarom povzročajo ekonomske izgube. Ob naselitvi na živilih in pomanjkanju dostopnih hranil bakterije *Pseudomonas* izločajo proteaze, s katerimi si zagotovijo dodaten vir hranil. Na živilih bakterije *Pseudomonas* sobivajo z drugimi prisotnimi (patogenimi) bakterijami, ki bi lahko izkoriščali hranila, ki jih zagotavljajo kvarljivci s svojo encimsko aktivnostjo. Encimska aktivnost bakterij *Pseudomonas* je sevno specifična ter odvisna od medija in temperature okolja. Bakterija *P. lundensis* PD15 z aktivnostjo spremeni aminokislinsko sestavo homogenata piščančjega mesa v bolj ugodno za rast planktonskih celic patogene bakterije *C. jejuni* NCTC 11168. Na živilih so bakterije največkrat prisotne v obliki biofilmskih celic. Da bi potrdili vpliv proteaznega delovanja

bakterij *Pseudomonas* na boljše preživetje patogenih bakterij direktno na živilih, bi na le-teh bilo potrebno izvesti dodatna testiranja.

5 VIRI

- Alazzam B., Bonnassie-Rouxin S., Dufour V., Ermel G. 2011. MCLMAN, a new minimal medium for *Campylobacter jejuni* NCTC 11168. *Research in Microbiology*, 162, 2: 173179
- Andreani N. A., Carraro L., Fasolato L., Balzan S., Lucchini R., Novelli E., Cardazzo B. 2016. Characterisation of the thermostable protease AprX in strains of *Pseudomonas fluorescens* and impact on the shelf-life of dairy products: preliminary results. *Italian Journal of Food Safety*, 5, 4: 6175, doi: 10.4081/ijfs.2016.6175
- Benitez J. A., Silva A. J., Finkelstein R. A. 2001. Environmental signals controlling production of hemagglutinin/protease in *Vibrio cholerae*. *Infection and Immunity*, 69, 10: 6549-6553
- Braga R. M., Dourado M. N., Araújo W. L. 2016. Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47: S86-S98
- Erkmen O., Faruk Bozoğlu T. 2016. Spoilage of meat and meat products. V: *Food microbiology: principles into practise*. Erkmen O., Faruk Bozoglu T. (ur.). Chichester, John Wiley & Sons: 279-295
- Freilich S., Zarecki R., Eilam O., Segal E. S., Henry C. S., Kupiec M., Gophna U., Sharan R., Ruppin E. 2011. Competitive and cooperative metabolic interactions in bacterial communities. *Nature Communications*, 2: 589, doi: 10.1038/ncomms1597
- Gao B., Vorwerk H., Huber C., Lara-Tejero M., Mohr J., Gooddman A. L., Eisenreich W., Galán J. E., Hofreuter D. 2017. Metabolic and fitness determinants for in vitro growth and intestinal colonization of the bacterial pathogen *Campylobacter jejuni*. *PLOS Biology*, 15, 5: e2001390, doi: 10.1371/journal.pbio.2001390
- Gram L., Ravn L., Rasch M., Bruhn J. B., Christesen A. B., Givskov M. 2002. Food spoilage – interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 79-97
- Hilbert F., Scherwitzel M., Paulsen P., Szostak M. P. 2010. Survival of *Campylobacter jejuni* under conditions of atmospheric oxygen tension with the support of *Pseudomonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 17: 5911-5917
- Ji P., Feng W. 2008. Solubility of amino acids in water and aqueous solutions by the statistical associating fluid theory. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 47: 6275-6279
- Kolbeck S., Abele M., Hilgarth M., Vogel R. F. 2021. Comparative proteomics reveals the anaerobic lifestyle of meat-spoiling *Pseudomonas* species. *Frontiers in Microbiology*, 12: 664061, doi: 10.3389/fmicb.2021.664061
- Khanna M. R., Gbavsar S. P., Kapadnis B. P. 2006. Effect of temperature on growth and chemotactic behaviour of *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology*, 43, 1: 84-90
- Maier C., Huptas C., Von Neubeck M., Scherer S., Wenning M., Lücking G. 2020. Genetic organization of the aprX-lipA2 operon affects the proteolytic potential of *Pseudomonas* species in milk. *Frontiers in Microbiology*, 11: 1190, doi: 10.3389/fmicb.2020.01190
- Raposo A., Pérez E., Tinoco de Faria C., Ferrús M. A., Carrascosa C. 2017. Food spoilage by *Pseudomonas* spp. V: *Foodborne pathogens and antibiotic resistance*. Singh O. V. (ur.). Hoboken, John Wiley & Sons: 41-71
- Stahl M., Butcher J., Stintzi A. 2012. Nutrient acquisition and metabolism by *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2:5, doi: 10.3389/fcimb.2012.00005
- Sternaša M., Klančnik A., Smole Možina S. 2019. Spoilage *Pseudomonas* biofilm with *Escherichia coli* protection in fish meat at 5 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 10: 4635-4641
- Vorwerk H., Mohr J., Huber C., Wensel O., Schmidr-Hohagen K., Gripp E., Josenhans C., Schomburg D., Eisenreich W., Hofreuter D. 2014. Utilization of host-derived cysteinecontaining peptides overcomes the restricted sulphur metabolism of *Campylobacter jejuni*. *Molecular Microbiology*, 93, 6: 1224-1245
- Wickramasinghe N. N., Ravensdale J., Coorey R., Chandry S. P., Dykes G. A. 2019. The predominance of psychrotrophic pseudomonads on aerobically stored chilled red meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18: 1622-1635

PROTIMIKROBNO DELOVANJE BIOPOLIMERNIH PREMAZOV ZA RAZVOJ AKTIVNE EMBALAŽE

Eva MEŽNAR¹, Meta STERNIŠA², Lidija FRAS ZEMLJIČ³ in Sonja SMOLE MOŽINA⁴

Povzetek: Problematika odpadne hrane in embalaže postaja vedno večji globalen problem. Zaradi povečane ekološke in zdravstvene ozaveščenosti ljudi po bolj razgradljivi in ekološko prijazni odpadni embalaži se razvijajo aktivni embalažni sistemi. Ti temeljijo na razvoju funkcionalnih premazov z naravnimi spojinami, ki izkazujejo dobre antioksidativne lastnosti in širok spekter protimikrobnega delovanja. Namen našega eksperimentalnega dela je bil preizkusiti protimikrobno delovanje fenolnih izvlečkov v kombinaciji s biopolimerom hitozanom za funkcionalizacijo aktivne embalaže živil. Delce fenolnih izvlečkov smo kapsulirali v delce hitozana in jih dispergirali v makromolekularni raztopini hitozana ter formulacijo nanесли na polimlečno-kislinske folije (PLA). Funkcionaliziranim folijam smo pomerili nekatere fizikalno-kemijske lastnosti ter antioksidativno učinkovitost in protimikrobno aktivnost proti izbrani gram-pozitivni bakteriji. Novo razvite funkcionalizirane folije so izkazovale dobre antioksidativne lastnosti in več kot 95,0 % protimikrobno aktivnost proti bakteriji *Staphylococcus aureus*. Funkcionalizirana folija PLA s hitozanskimi premazi, obogatenimi z izbranimi izvlečki je bila uspešna pri zaviranju kondenzacije, oksidacijskih in mikrobioloških sprememb.

Ključne besede: aktivna embalaža, fenolni izvlečki, funkcionalizirane folije, PLA, hitozan, protimikrobna aktivnost, antioksidativna aktivnost

ANTIMICROBIAL ACTION OF BIOPOLYMER COATINGS FOR THE DEVELOPMENT OF ACTIVE PACKAGING

Abstract: The issue of food waste and packaging is becoming an increasingly significant global problem. Due to the increased environmental and health awareness of people regarding biodegradable and environmentally friendly packaging, active packaging systems are being developed. These systems are based on the development of functional coatings using natural compounds that exhibit good antioxidant properties and a broad spectrum of antimicrobial activity. The purpose of our experimental work was to test the antimicrobial activity of phenolic extracts in combination with the biopolymer chitosan for the functionalization of active food packaging. We encapsulated particles of phenolic extracts in chitosan particles and dispersed them in a macromolecular chitosan solution, then applied the formulation to polylactic acid (PLA) films. We measured some physicochemical properties of the functionalized films, as well as their antioxidant efficacy and antimicrobial activities against a selected gram - positive bacteria. The newly developed functionalized films showed good antioxidant properties and more than 95,0 % antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. The functionalized PLA film with chitosan coatings enriched with selected extracts was successful in preventing condensation, oxidative, and microbiological changes.

Keywords: active packaging, phenolic extracts, functionalized films, PLA, chitosan, antimicrobial activity, antioxidant activity

¹ MSc mikrob., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mezmar.eva@gmail.com

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

³ prof. dr., Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo, Laboratorij za karakterizacijo in predelavo polimerov, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor, e-mail: lidija.fras@um.si

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

1 UVOD

Kot odziv na večjo ekološko ozaveščenost ljudi ter dinamične spremembe tržnih trendov in povpraševanja potrošnikov po višji stopnji varnosti živil in bolj ekološki embalaži se pospešeno razvijajo aktivni embalažni sistemi. Dodatki v ali na embalažni material ohranjajo kakovost in podaljšajo rok uporabe (Berk, 2018). Kot aktivne učinkovine se uporabljajo razni biopolimeri, v kombinaciji z biološko aktivnimi spojinami, kot so bakteriocini, encimi, rastlinskimi izvlečki in eterična olja. Rastlinski izvlečki in eterična olja so protimikrobno in antioksidativno aktivni zaradi visoke vsebnosti fenolnih snovi. Integracija teh snovi ohranja kakovost živil, podaljšuje rok uporabe in zagotavlja visoko stopnjo varnosti. Hkrati minimalno vplivajo na okolje in so biokompatibilne, zato so uporabne za razvoj aktivne embalaže za živila (Irkin in Esmer, 2015).

2 MATERIAL IN METODE

Cilj dela je bil preizkusiti protimikrobno delovanje fenolnih izvlečkov v kombinaciji s biopolimerom hitozanom za funkcionalizacijo embalažne folije za živila. Za ta namen smo razvili formulacije hitozana z izvlečki lista robide, brina in rjave alge. Izvlečke smo z ionskim geliranjem kapsulirali v hitozan in naknadno dispergirali v makromolekularni raztopini hitozana. Bioaktivno formulacijo smo kot zunanjo plast dvoslojnega hitozanskega premaza nanесли na polimlečno-kislinske (PLA) folije z valjčkanjem z magnetnim raklom, nato pa folijam pomerili nekatere fizikalno-kemijske lastnosti. Uspešnost nanosa formulacij na folije in njihovo topografijo ter kemično sestavo smo preverili s spektroskopskimi tehnikami: infrardečo absorpcijsko spektroskopijo (ATR-FTIR), rentgensko fotoelektronsko spektroskopijo (XPS) in vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Z optičnim goniometrom smo izmerili kontaktni kot folij, iz katerega smo nato določili hidrofilnost/hidrofobnost funkcionaliziranih folij.

2.1 DOLOČANJE ANTIOKSIDATIVNEGA POTENCIALA

Antioksidativno aktivnost smo določili z reagentom ABTS oziroma 2,2'-azino-bis(3-aetilbenzotiazolin-6-sulfonske kisline). Metoda temelji na oksidaciji ABTS^{•+} radikala ob dodatku kalijevega persulfata K₂S₂O₈, ki ima absorbcijo maksimum pri valovni dolžini 734 nm. Ob dodatku fenolnih spojin, ki so donorji vodikovega atoma, ABTS^{•+} hitro odreagira, se reducira in se razbarva, kar spektrofotometrično izmerimo. Zmanjšanje absorbance radikala ABTS^{•+} je proporcionalno koncentraciji in aktivnosti antioksidanta v vzorcu.

Pripravili smo 7 mM vodno raztopino ABTS v 2,34 mM kalijevem persulfatu. Pred začetkom meritev smo raztopino ABTS^{•+} razredčili s fosfatnim pufrom, da smo dosegli vrednost absorbance 0,7161 pri 734 nm. Razrezane koščke funkcionaliziranih folij smo prelili s 3,9 mL raztopine ABTS^{•+}. Meritve smo izvajali ob času 0, 15 in 60 minut in nato določili inhibicijsko sposobnost ABTS^{•+} pri 734 nm z uporabo enačbe (1).

$$\text{Inhibicija radikala (\%)} = \frac{A_k - A_v}{A_k} \times 100 \quad \dots (1)$$

Pri čemer je:

A_k – absorbanca začetne raztopine ABTS^{•+}

A_v – absorbanca vzorca (funkcionalizirana folija)

2.2 DOLOČANJE PROTIMIKROBNE UČINKOVITOSTI

Za določanje protimikrobne aktivnosti funkcionaliziranih folij PLA smo uporabili modificirano različico standardne metode ISO 22196 (2007) za merjenje protibakterijske aktivnosti na plastičnih površinah. Standard kvantitativno ocenjuje delovanje plastičnih površin po 24-urni inkubaciji znanega bakterijskega inokuluma (Perez-Gavilan in sod., 2021). V našem primeru je bil to sev bakterije *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ki smo ga pridobili iz zbirke Laboratorija za živilsko mikrobiologijo na Katedri za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Izbrani bakterijski sev smo revitalizirali in pripravili inokulum koncentracije približno 10⁵ CFU/mL. Vzorce folij PLA smo razrezali na manjše koščke in jih inokulirali s 200 µL suspenzije inokuluma ter kapljico pokrili s

pokrivno polipoprilensko folijo za zagotavljanje tesnega stika s površino in preprečevanje izsušitve inokuluma med inkubacijo. Test smo izvajali z vzporednimi negativnimi kontrolami in jih skupaj s preizkusnimi vzorci inkubirali v vlažnem okolju 24 ur pri 37 °C. Po inkubaciji smo vzorce suspendirali v nevtralizacijskem sredstvu, ki preprečuje odvečne interakcije med materialom in mikroorganizmom. Število bakterijskih celic (N) smo določili s števno metodo in zmanjšanje števila mikroorganizmov primerjali s kontrolnimi vzorci. Uporabili smo sledečo enačbo:

$$N = \frac{100 \times \bar{n} \times R \times V}{P} \quad \dots (2)$$

Pri čemer je:

N število preživelih bakterij na cm²

$\bar{n}$ je povprečno število prešteti kolonij na petrijevki

R je upoštevana razredčitev

V volumen dodanega nevtralizatorja (SCDLP bujona) vzorcu (10 mL)

P površina pokrivne folije v mm² (2,0 cm x 2,0 cm = 4,0 cm² = 400 mm²).

Izračunali smo tudi protimikrobno aktivnost po enačbi:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t \quad \dots (3)$$

Pri čemer je:

R protimikrobna aktivnost (log₁₀ CFU/cm²)

U₀ je povprečni log₁₀ N (CFU/cm²) takoj po inokulaciji kontrolnih vzorcev (K₀)

U_t je povprečni log₁₀ N (CFU/cm²) po 24 h inkubaciji kontrolnih vzorcev (K₂₄)

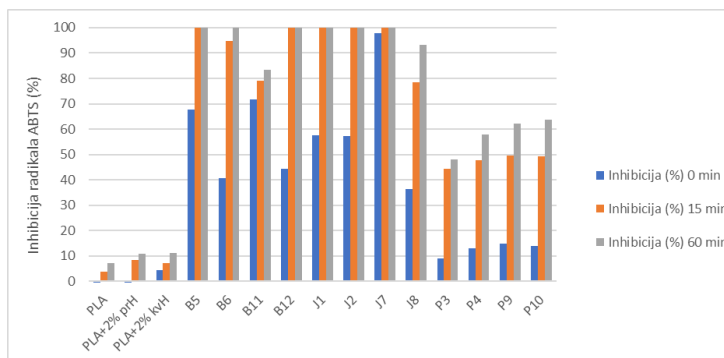
A_t je povprečni log₁₀ N (CFU/cm²) po 24 h inkubaciji vzorcev

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 REZULTATI FIZIKALNO-KEMIJSKIH LASTNOSTI FOLIJE

Analizi ATR-FTIR in XPS sta jasno pokazali na uspešen nanos formulacij hitozana in fenolnih izvlečkov na folijo PLA. Pokritost folij z različnimi formulacijami potrjuje tudi analiza SEM, hkrati pa razkriva nehomogeno porazdelitev nanosa, ki lahko vpliva na različno funkcionalnost folij. Pomembna lastnost embalažnega materiala je omočljivost, ki preprečuje nastanek kondenzacije na notranji strani embalaže. Čim večji je kontaktni kot, bolj je material hidrofoben, kar povečuje možnost pojava kondenzacije (Introzzi in sod., 2012). Pri vseh funkcionaliziranih folijah z vgrajenimi izvlečki se je kontaktni kot zmanjšal, kar jim daje dober hidrofilen značaj. Sam hitozan zmanjšanja kontaktnega kota ne povzroča, pridobitev hidrofilnih lastnosti folij pripisujemo kombinaciji izvlečkov in hitozana, primarno pa izvlečkom samim.

3.2 REZULTATI ANTIOKSIDATIVNEGA POTENCIALA



Slika 1: Inhibicija radikala ABTS ob časih 0, 15 in 60 minut.

PLA – neobdelana folija; prH – primarni hitozan; kvH – kvartarni hitozan; B5 - PLA + 2 % prH+ (izvleček robide + 1 % prH); B6 - PLA + 2 % prH + (izvleček robide + 1 % kvH); B11 - PLA + 2 % kvH + (izvleček robide + 1 % prH); B12 - PLA + 2 % kvH + (izvleček robide + 1 % kvH); J1 - PLA + 2 % prH + (izvleček brina + 1 % prH); J2 - PLA + 2 % prH + (izvleček brina + 1 % kvH); J7 - PLA + 2 % kvH + (izvleček brina + 1 % prH); J8 - PLA + 2 % kvH + (izvleček brina + 1 % kvH); P3 - PLA + 2 % prH + (izvleček alge + 1 % prH); P4 - PLA + 2 % prH + (izvleček alge + 1 % kvH); P9 - PLA + 2 % kvH + (izvleček alge + 1 % prH); P10 - PLA + 2 % kvH+ (izvleček alge + 1 % kvH).

Referenčne folije so po 60 min izkazale do največ 11 % inhibicije (slika 1), kar je pričakovano slaba antioksidativna aktivnost. Folija PLA pa ne izkazuje antioksidativnih lastnosti (Liu in sod., 2018), prav tako ima hitozan slabo antioksidativno aktivnost (Wan in sod., 2013). Nasprotno pa funkcionalizirane folije z izvlečkom iglic brina in lista robide izkazujejo daleč najboljšo antioksidativno aktivnost. Že po 15 min so folije B5, B11, B12, J2 in J7 pokazale maksimalno zmanjšanje prostih radikalov in dosegle 100 % inhibicijo radikala ABTS. Pri teh folijah se je aktivnost folij pokazala že v kratkem časovnem intervalu, kar je lahko posledica boljšega oprijema ali večje količine razpoložljivega izvlečka na površini (Potrč in sod., 2020). Hitozan izraža zanemarljivo antioksidativno aktivnost, zato lahko sklepamo, da so fenolne spojine v izvlečkih gonilna sila za zaviranje prostih radikalov (Zemljčič in sod., 2022).

Pri folijah z izvlečkom alge je bila aktivnost manjša od pričakovane (okrog 60 % inhibicija radikala ABTS ob času 60 min), a boljša kot pri referenčnih vzorcih. Antioksidativno sposobnost izboljšujejo fenolne spojine, ki pa v izvlečku alge *P. pavonica* niso bile večinsko prisotne, kar je lahko vzrok za slabšo antioksidativno aktivnost naših folij (Čagalj in sod., 2022).

3.3 PROTIMIKROBNO DELOVANJE

Preglednica 1: Rezultati protimikrobne aktivnosti proti bakteriji *S. aureus*: povprečno št. celic, standardna deviacija, protimikrobna aktivnost R in R v odstotkih (med povprečnimi vrednostmi vzorcev, označenih z isto črko, ni statistično značilne razlike).

Bakterija	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Vzorec	Povprečno št. celic N (log ₁₀ CFU/cm ²) s standardnim odklonom	Protimikrobna aktivnost R (log ₁₀ CFU/cm ²) R (%) (log ₁₀ CFU/cm ²)
	PLA	5,19 ^a ± 0,34	/
	PLA + 2 % prH	<0,40 ^e ± 0,00	> 4,80
	PLA + 2 % kvH	<0,40 ^e ± 0,00	> 4,80
	B5	1,85 ^{cd} ± 1,99	3,34
	B6	2,29 ^c ± 1,93	2,90
	B11	3,83 ^b ± 1,76	1,36
	B12	1,55 ^{cde} ± 1,50	3,65
	J1	1,87 ^{cd} ± 1,02	3,32
	J2	1,01 ^{cde} ± 0,61	4,19
	J7	0,64 ^{de} ± 0,49	4,55
	J8	1,09 ^{cde} ± 0,99	4,11
	P3	0,95 ^{cde} ± 0,78	4,24
	P4	<0,40 ^e ± 0,00	> 4,80
	P9	0,71 ^{de} ± 0,39	4,49
	P10	<0,40 ^e ± 0,00	> 4,80

PLA – neobdelana folija; prH – primarni hitozan; kvH – kvartarni hitozan; B5 - PLA + 2 % prH+ (izvleček robide + 1 % prH); B6 - PLA + 2 % prH + (izvleček robide + 1 % kvH); B11 - PLA + 2 % kvH + (izvleček robide + 1 % prH); B12 - PLA + 2 % kvH + (izvleček robide + 1 % kvH); J1 - PLA + 2 % prH + (izvleček brina + 1 % prH); J2 - PLA + 2 % prH + (izvleček brina + 1 % kvH); J7 - PLA + 2 % kvH + (izvleček brina + 1 % prH); J8 - PLA + 2 % kvH + (izvleček brina + 1 % kvH); P3 - PLA + 2 % prH + (izvleček alge + 1 % prH); P4 - PLA + 2 % prH + (izvleček alge + 1 % kvH); P9 - PLA + 2 % kvH + (izvleček alge + 1 % prH); P10 - PLA + 2 % kvH+ (izvleček alge + 1 % kvH).

Neobdelana referenčna folija PLA ni pokazala nobenega učinka na bakterijo, kar smo pričakovali, saj nima protimikrobnega delovanja (Liu in sod., 2018). Vse funkcionalizirane folije z vgrajenimi izvlečki so izkazovale

več kot 95 % protimikrobno aktivnost proti *S. aureus*, večina celo več kot 99,5 % protimikrobno aktivnost (pregl.2). Prisotne so bile razlike med protimikrobno aktivnostjo funkcionaliziranih folij z različnimi formulacijami in visoke vrednosti standardnih deviacij. Razlog za to bi lahko bil nehomogen nanos premaza na folijo, kar je morda vplivalo tudi na protimikrobno aktivnost.

Zelo dobro je bilo tudi protimikrobno delovanje referenčnih folij, prevlečenih samo s 2 % hitozanom. V primeru hitozana so protonirane aminske skupine tiste, ki v prvi vrsti inducirajo protimikroben učinek (Potrč in sod., 2020). Hitozan ima tako sam po sebi protimikrobne lastnosti, ne izboljša pa antioksidativnega potenciala. Najboljše protimikrobno in antioksidativno delovanje hkrati dobimo le s hitozanskimi premazi z dodatkom izvlečkov. Dodatek fenolnega izvlečka lista robide in iglic brina ne zmanjša protimikrobne aktivnosti hitozanskega premaza za več kot 5 %, močno pa izboljša njegovo antioksidativno aktivnost.

4 ZAKLJUČEK

Ključne lastnosti, ki jih želimo doseči pri razvoju aktivne embalaže, so hidrofilnost, antioksidativna aktivnost in protimikrobnost. Zmanjšanje kondenzacije ter oksidativnih in mikrobioloških procesov kvarjenja hrane je izjemnega pomena za ohranjanje kakovosti in varnosti živil ter prispeva dodatno vrednost za praktično uporabo v živilski industriji. Potrdimo lahko, da so naše funkcionalizirane folije PLA s hitozanskimi premazi, obogatenimi z izbranimi izvlečki, uspešno zavrle kondenzacijo, oksidacijske in mikrobiološke spremembe, zato so primerne za nadaljnje testiranje »in vitro« in na živilskih izdelkih.

5 ZAHVALA

Raziskava je nastala v okviru projektov BioProMedFood (PRIMA ID 1467) in ARRS N4-0145 (SSM) in Nacionalnega programa P2-0118. Program PRIMA je podpirala Evropska unija.

6 VIRI

- Berk Z. 2018. Food process engineering and technology. 3rd ed. San Diego, Academic Press: 625-641
- Čagalj M., Zemljič F. L., Glaser K. T., Mežnar E., Sterniša M., Možina S. S., Razola-Díaz M., Šimat V. 2022. Seasonal changes in chemical profile and antioxidant activity of *Padina pavonica* extracts and their application in the development of bioactive chitosan/PLA bilayer film. *Foods*, 11, 3847, doi: 10.3390/foods11233847
- Introzzi L., Fuentes-Alventosa J. M., Cozzolino C. A., Trabattini S., Tavazzi S., Bianchi C. L., Schiraldi A., Piergiovanni L., Farris S. 2012. »Wetting Enhancer« pullulan coating for antifog packaging applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4, 7: 3692-3700
- Irkin R., Esmer O. K. 2015. Novel food packaging system with natural antimicrobial agents. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 10: 6095-6111
- ISO 22196. Plastics - Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces. 2007
- Liu Y., Liang X., Wang S., Qin W., Zhang Q. 2018. Electrospun antimicrobial polylactic acid/tea polyphenol nanofibers for food-packaging applications. *Polymers*, 10, 5: 561, doi: 10.3390/polym10050561
- Mežnar E. 2023. Protimikrobno delovanje biopolimernih premazov za razvoj aktivne embalaže. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Magistrski študijski program 2. stopnje Mikrobiologija, 52 str.
- Perez-Gavilan, A., Castro J.V., Arana A., Merino S., Retolaza A., Alves S.A., Francone A., Kehagias M., Sotomayor-Torres C.M., Cocina D., Mortera R., Crapanzano S., Pelegrín C. J., Garrigos M. C., Jiménez A., Galindo B., Araque M. C., Dykeman D., Neves N. M., Marimón J. M. 2021. Antibacterial activity testing methods for hydrophobic patterned surfaces. *Scientific Reports*, 11: 6675, doi: 10.1038/s41598-021-85995-9
- Potrč S., Sterniša M., Smole M. S., Hrnčič K. M., Fras Z. L. 2020. Bioactive characterisation of packaging foils coated by chitosan and polyphenol colloidal formulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 7: 2610, doi:10.3390/ijms21072610
- Wan A., Xu Q., Sun Y., Li H. 2013. Antioxidant activity of high molecular weight chitosan and N, O-quaternized chitosans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 28: 6921-6928
- Zemljič F. L., Glaser K. T., Plohl O., Anžel I., Šimat V., Čagalj M., Mežnar E., Malin V., Sterniša M., Možina S. S. 2022. Biomass-derived plant extracts in macromolecular chitosan matrices as a green coating for PLA films. *Journal of Functional Biomaterials*, 13, 4: 228, doi:10.3390/jfb13040228

MED OBČUTLJIVOSTJO IN INTENZIVNOSTJO: VPLIV SENZORIČNIH SPOSOBNOSTI NA DOŽIVLJANJE OKUSOV

Elena MOLAC¹, Anja BOLHA² in Mojca KOROŠEC³

Povzetek: Senzorične sposobnosti okušanja se med posamezniki razlikujejo in so lahko povezane tudi z všečnostjo in izbiro hrane oziroma načinom prehranjevanja. V nalogi smo želeli raziskati ali med senzoričnimi sposobnostmi posameznikov obstajajo povezave ter kako se odražajo v prehranjevalnih navadah. V eksperimentalnem delu magistrske naloge smo udeleženkam raziskave določili prag zaznave in prepoznavne sladkega in slanega okusa, preverili zaznavanje intenzivnosti osnovnih okusov (sladko, slano, grenko, kislo, umami), občutljivost na spojino PROP in določili gostoto gobastih papil (FP) na jeziku. Rezultati so pokazali, da med skupinami udeleženk, ki različno intenzivno zaznavajo spojino PROP (okuševalci in ne-okuševalci), kot tudi med skupinami udeleženk, ki imajo različno gostoto FP (majhna, srednja, velika) ni statistično značilnih razlik v intenzivnosti zaznave osnovnih okusov ali v pragih zaznave in prepoznavne sladkega in slanega okusa. Prav tako ni bilo omenjenih razlik med udeleženkami, ki so v preteklem letu prebolele COVID-19 in zdravi. Udeleženke z veliko gostoto FP so živile z veliko vsebnostjo maščob in soli, kot tudi živile z veliko vsebnostjo sladkorja opisale kot všečna in okusna, medtem ko so jih tiste z majhno gostoto FP opisale kot nevšečna in neokusna. Med pragoma zaznave in prepoznavne sladkega okusa je bila močna pozitivna korelacija, ki pa je nismo potrdili v primeru praga za slan okus.

Ključne besede: senzorične sposobnosti, 6-n-propiltiouracil, zaznava okusov, gostota gobastih papil, prehranske preference

BETWEEN SENSITIVITY AND INTENSITY: THE IMPACT OF SENSORY ABILITIES ON EXPERIENCING TASTES

Abstract: Sensory abilities vary between individuals and may be related to different food preferences and choices. In our master's thesis, we were researching if correlations exist between sensory abilities in individuals and how these abilities influence food preferences and choices. In the experimental part, we determined, on a panel of female consumers, their detection and recognition threshold for sweet and salty tastes, the perceived intensity of basic tastes (sweet, salty, bitter, sour, umami), the sensitivity to PROP compound, and density of fungiform papillae (FP) on the tongue. The results demonstrated that, between subjects with different PROP taster statuses (tasters, and non-tasters), as between subjects with different FP densities (small, medium, high) there were no statistically significant differences in the perceived intensity of basic tastes or in the detection and recognition threshold for sweet and salty taste. Also, there were no differences in sensory abilities between subjects who suffered from COVID-19 in the past year and healthy subjects. Nevertheless, it was found that those with a high density of FP rated sweet and high-fat foods as liked and tasty, while those with low FP density found this kind of food disliked and not tasty. A strong positive correlation was found between the detection and recognition thresholds for sweet, but not salty taste.

Keywords: sensory abilities, 6-n-propylthiouracil, taste perception, fungiform papillae density, food preferences

¹ mag. inž. preh., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: elena.molac@gmail.com

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

³ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mojca.korosec@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Na prehranske navade posameznika vpliva več dejavnikov, med katerimi posebej izstopata zaznava osnovnih okusov in prehranske preference. Te se skozi življenje spreminjajo in so pogojene z genetiko, kulturo, vzgojo, izkušnjami ter učenjem (Duffy in sod., 2009). Genetske razlike, na primer odziv na spojino 6-n-propiltiouracil (PROP), ter gostota gobastih papil (FP) na jeziku vplivajo na občutljivost in prehranske izbire (Dinnella in sod., 2018). Raziskave, ki obravnavajo gostoto FP (Dinnella in sod., 2018) in vpliv bolezni kot je COVID-19, dodatno poudarjajo pomen razumevanja okusa kot dejavnika prehranskega izbora (Brann in sod., 2020). Namen naše raziskave je bil preveriti, kakšen odstotek mlajših potrošnikov v panelu 53 oseb lahko glede na zaznavo PROP uvrstimo med (super) okuševalce in ne-okuševalce, kakšen odstotek jih sodi v eno od treh skupin na podlagi gostote FP, kako intenzivno zaznavajo raztopine osnovnih okusov in kakšne so njihove preference v povezavi s sladkimi oziroma mastnimi živil. V raziskavi smo uporabili preskus razlikovanja (3-AFC, preskus z izsiljeno izbiro med tremi možnostmi), splošno lestvico z oznako magnitud zaznane intenzivnosti (gLMS) in vprašalnik o prehranskem znanju in navadah, povezanimi predvsem z uživanjem za zdravje manj ugodnih živil. Etično ustreznost študije je odobrila Komisija za etično presojo raziskav s področja prehrane (KEP), pod številko: KEP-1-4/2021. Ker so več kot 80 % (43 od 53) panelistov predstavljale ženske, so prispevku predstavljeni rezultati le za ženski spol.

2 SENZORIČNA SPOSOBNOST OKUŠANJA

Zaznavanje okusov je kompleksno in vključuje različne strukture in mehanizme, kot so okušalne papile, receptorji ter povezani živčni sistemi. Pomemben poudarek raziskave je na povezavi med gostoto gobastih papil (FP), statusom okuševalca spojine PROP (okuševalec, ne-okuševalec) in prehranskimi preferencami.

2.1 SPOJINA PROP IN SENZORIČNA OBČUTLJIVOST

Zaznava grenkega okusa spojine PROP se uporablja kot marker za klasifikacijo senzoričnih tipov. Spojina PROP vsebuje tiocianatno skupino ($-N-C=S$), zaradi katere večina ljudi zaznava intenzivno grenak okus, medtem ko ga nekateri ne okusijo. Te razlike so posledica polimorfizmov v genu TAS2R38, ki se nahaja na kromosomu 7. Genetika določa, ali posameznik spada med super okuševalce (ST), povprečne (MT) ali ne-okuševalce (NT) (Bartoshuk in sod., 1994; Reed in sod., 1999; Robino in sod., 2022). Te razlike se ne odražajo le v zaznavi okusa, ampak tudi v dejanskih prehranskih preferencah, kot so manjša naklonjenost mastnim, sladkim ali grenkim živilom pri ST posameznikih. Hkrati je to področje še vedno predmet aktivnih raziskav, saj vplivajo še drugi dejavniki, kot so gostota FP in okolje, v katerem posameznik živi.

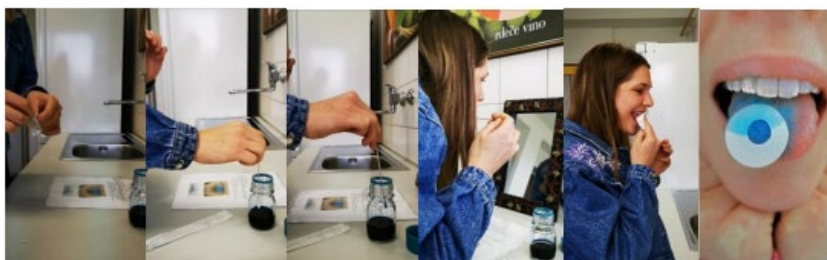
Med udeleženkami naše raziskave je bilo, na podlagi zaznave raztopine PROP (0,32 mmol/L), 84 % uvrščenih v skupino okuševalcev in 16 % v skupino ne-okuševalcev PROP, kar je primerljivo z razmerji v literaturi (Robino in sod., 2014; Guo in Reed, 2001; Kim in Dryana, 2005). Med udeleženkami okuševalci in ne-okuševalci PROP ni bilo statistično značilnih razlik (Welch t-test, $p > 0,05$) v zaznani intenzivnosti osnovnih okusov, izraženi na lestvici gLMS, kot tudi ne v pragih zaznave sladkega in slanega okusa, določenih z metodo 3-AFC. Vendar pa rezultati nakazujejo, da ima status okuševalca PROP lahko vpliv na percepcijo in vsečnost določenih živil, kot so sladka, mastna ali grenka živila. Okuševalke PROP so ta živila statistično značilno pogostejše ($p < 0,05$) označile kot manj všečna oziroma neprijetna.

Duffy in sod., (2004) poročajo, da ne-okuševalci PROP pogostejše uživajo živila z večjim tveganjem za zdravje (več sladkorja, maščobe, alkohola), kar pa novejšje študije na večjih populacijah ne potrjujejo enoznačno (Duffy in sod., 2009; Dinnella in sod., 2018). Kljub temu PROP lahko predstavlja uporaben fenotipski marker pri razumevanju razlik v prehranskih izbirah in potencialnih tveganjih.

2.2 GOSTOTA GOBASTIH PAPIL IN SENZORIČNA OBČUTLJIVOST

Gostota gobastih papil (FP) se v raziskavah najpogostejše določa po protokolu Denver Papillae Protocol (DPP, slika 1), ki s pomočjo dihotomnega ključa omogoča dosledno in objektivno prepoznavanje FP na jeziku (Nuessle in sod., 2015). Pri tem se opira na morfološke značilnosti papil, kot so okrogla, široka in povišana oblika, ne pa

na njihovo obarvanost (Miller in Reedy, 1990). Gostota FP se lahko zelo razlikuje med posamezniki, od 0 do več kot 200 papil na cm^2 (Fischer in sod., 2013), in je pomemben dejavnik pri raziskavah okusa in prehranskih navad.

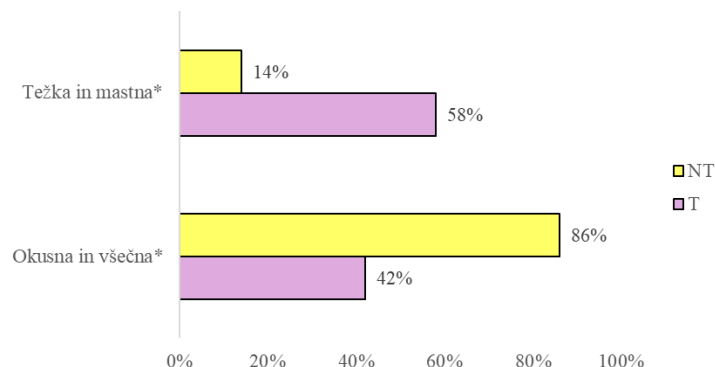


Slika 1: Prikaz poteka priprave vzorca pred fotografiranjem po protokolu DPP (Nuessle in sod., 2015)

Glede na gostoto FP smo udeleženske v naši raziskavi razdelili po kvartilih in oblikovali tri skupine (nizka gostota FP/ cm^2 , srednja gostota FP/ cm^2 in visoka gostota FP/ cm^2). Ugotovili smo, da so med skupinami statistično značilne razlike (hi-kvadrat, $p = 0,010$) v prehranskih preferencah. Udeleženske z veliko gostoto FP so v večji meri poročale, da so jim živila z veliko vsebnostjo sladkorja všeč (71 %), medtem ko so jih tiste s srednjo in majhno gostoto večinoma označile kot nevšečna (92 % in 75 %). Prav tako so ženske z majhno gostoto FP mastna in slana živila pogosteje opisale kot "težka" (87,5 %), medtem ko so jih ostale označile kot "okusna". Ti rezultati se ujemajo z ugotovitvami Duffy in Bartoshuk (2000).

3 PREHRANSKE NAVADE IN PREFERENCE

Prehranske navade in preference posameznika so pogojene z biološkimi, kulturnimi in psihološkimi dejavniki. Med pomembnejšimi dejavniki so senzorična občutljivost, znanje o prehrani ter prehranska ozaveščenost (Korinth in sod., 2010). V naši raziskavi smo proučevali, kako študentke prehrane in živilstva ocenjujejo živila z veliko vsebnostjo sladkorja, soli in maščob, in kako pogosto izbirajo bolj zdrave alternative. Večina udeleženk raziskave (67 %) redko uživa živila z veliko vsebnostjo maščob in soli, pri čemer ni bilo razlik med okuševalkami PROP in ne-okuševalkami PROP. Vendar pa so okuševalke PROP ta živila pogosteje opisovale kot "težka in mastna", ne-okuševalke PROP pa kot "okusna in všečna", razlika je bila statistično značilna ($p = 0,033$, slika 2). Poleg tega so udeleženske, ki omejujejo maščobo v prehrani, pogosto hkrati omejevale tudi sladkor in sol, kar kaže na konsistentno prehransko znanje in ozaveščenost.



Slika 2: Primerjava percepcije živil z veliko vsebnostjo maščob in soli med skupinama T (okuševalci PROP) in NT (ne-okuševalci PROP). *Porazdelitev odgovorov se med skupinama statistično značilno razlikuje (hi-kvadrat test, $p < 0,05$)

Osebe, ki pri pripravi hrane omejujejo sladkor, so zaznale raztopino sladkega okusa intenzivneje kot tiste, ki sladkor uporabljajo zmerno. Prav tako so bila živila z veliko vsebnostjo sladkorja manj všeč tistim, ki sladkor omejujejo (71 %), v primerjavi z všečnostjo med tistimi, ki ga uporabljajo zmerno (83 %). Status okuševalca PROP ni bil povezan z navadami uporabe sladkorja, soli ali maščobe.

Statistične analize so pokazale, da posameznice, ki omejujejo uporabo sladkorja, pogosteje bolj intenzivno zaznavajo testno raztopino sladkega okusa, in da imajo tiste, ki pogosteje jedo sladice, večjo preferenco do sladkih prigrizkov.

Ugotovili smo tudi statistično značilno povezavo med odnosom do živil z veliko vsebnostjo maščob in navadami uporabe maščobe – tiste udeleženke, ki jo omejujejo, ta živila ocenjujejo kot "težka in mastna", medtem ko jih ostale opisujejo kot "okusna in všečna". Raziskava kaže, da prehranske preference študentk magistrskih programov prehrane in živilstva na Biotehniški fakulteti temeljijo na senzorični zaznavi in strokovnem znanju o zdravem prehranjevanju. Udeleženke se pogosto odločajo za živila z manjšo vsebnostjo maščob, sladkorja in soli, pri čemer se preference močno povezujejo z individualno občutljivostjo za okuse. Predvidevamo, da ima pomemben vpliv tudi tekom študija pridobljeno znanje o prehrani.

4 PREBOLELOST COVID-19 IN SENZORIČNA OBČUTLJIVOST

Okužba z virusom SARS-CoV-2 pogosto povzroči anozmijo (izgubo vonja), disgevizijo (spremenjeno zaznavo okusa) ter avgezijo (popolno izgubo okušanja). Mehanizmi vključujejo vpliv virusa na podporne celice okušalnih in vohalnih struktur preko receptorjev ACE2, kar vodi v začasno ali trajno senzorično disfunkcijo. Študije kažejo, da nekateri posamezniki tudi po okrevanju poročajo o spremenjeni zaznavi določenih okusov (Brann in sod., 2020).

Preglednica 1: Porazdelitev senzoričnih motenj med udeleženkami, ki so prebolele COVID-19

Vrsta senzorične disfunkcije	Delež (%)
Izguba samo vonja (anozmija)	14 %
Sočasna izguba okusa in vonja (avgezija)	67 %
Brez disfunkcije	19 %

Večina udeleženk, ki so prebolele okužbo z virusom COVID-19, je poročala o začasni izgubi vonja in okusa, vendar dolgotrajni učinki niso bili potrjeni. Raziskava ni pokazala statistično značilnih razlik v zaznani intenzivnosti osnovnih okusov med udeleženkami, ki so prebolele in tistimi, ki niso prebolele COVID-19. To nakazuje, da je pri tej populaciji povrnitev senzoričnih funkcij po okužbi učinkovita in popolna. Naši rezultati so primerljivi z ugotovitvami Lee in sod. (2020), ki govorijo o visoki pojavnosti sočasne anozmije in avgezije ter hitro okrevanje, in s Hintschich in sod. (2022), ki prav tako niso potrdili dolgoročnih učinkov okužbe na zaznavo okusov.

5 ZAKLJUČEK

Na primeru mladih zdravih žensk smo ugotovili, da status okuševalca PROP ni vplival na zaznano intenzivnost osnovnih okusov, vendar je bil povezan s percepcijo nekaterih prehransko manj ugodnih živil. Rezultati kažejo, da okužba s COVID-19 z disfunkcijo voha in/ali okusa pri udeleženkah ni dolgoročno vplivala na zaznavo osnovnih okusov. Pokazale pa so se pomembne razlike v preferencah do določenih živil, predvsem tistih z veliko vsebnostjo sladkorja, soli in maščob, v oziru na gostoto gobastih papil (FP) pri udeleženkah ter deloma tudi glede na njihov PROP status. Udeleženke z veliko gostoto FP so takšna živila ocenile kot bolj všečna, medtem ko so jih tiste z nižjo gostoto FP zaznale kot manj prijetna. Poleg tega tiste, ki omejujejo uporabo sladkorja v prehrani, sladek okus zaznavajo bolj intenzivno kot ostale. Kljub zanimivim izsledkom moramo biti pri interpretaciji previdni, saj je bil panel sestavljen iz študentk prehrane in živilstva, kar lahko vpliva na nekatere rezultate. Sklepamo lahko, da s senzoričnim zaznavanjem povezani dejavniki, kot sta gostota FP in PROP status, sodelujejo pri oblikovanju prehranskih preferenc in zgolj omejeno vplivajo na osnovno zaznavo okusov.

6 VIRI

Bartoshuk L. M., Duffy V. B., Miller I. J. 1994. PTC/PROP tasting: anatomy, psychophysics, and sex effects. *Physiology & Behavior*, 56, 6: 1165-1171

- Brann D. H., Tsukahara T., Weinreb C., Lipovsek M., Van den Berge K., Gong B., Chance R., Macaulay I. C., Chou H. J., Fletcher R. B., Das D., Street K., de Bezieux H. R., Choi Y. G., Risso D., Dudoit S., Purdom E., Mill J., Hachem R. A., Matsunami H., Logan D. W., Goldstein B. J., Grubb M. S., Ngai J., Datta S. R. 2020. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Science Advances*, 31, 6: eabc5801, doi: 10.1126/sciadv.abc5801: 28 str.
- Delwiche J. F., Buletic Z., Breslin P. 2001. Relationship of papillae number to bitter intensity of quinine and PROP within and between individuals. *Physiology & Behavior*, 74, 3: 329-337
- Dinnella C., Monteleone E., Piochi M., Spinelli S., Prescott J., Pierguidi L., Gasperi F., Laureati M., Pagliarini E., Predieri S., Torri L., Barbieri S., Valli E., Bianchi P., Braghieri A., Caro A. D., Di Monaco R., Favotto S., Moneta E. 2018. Individual variation in PROP status, fungiform papillae density, and responsiveness to taste stimuli in a large population sample. *Chemical Senses*, 43, 9: 697-710
- Duffy V. B., Bartoshuk L. M. 2000. Food acceptance and genetic variation in taste. *Journal of the American Dietetic Association*, 100, 6: 647-655
- Duffy V. B., Hayes J. E., Bartoshuk L. M., Snyder D. J. 2009. Taste: vertebrate psychophysics. V: *Encyclopedia of neuroscience*. Squire L. R. (ur.). Amsterdam, Elsevier: 881-886
- Duffy V. B., Peterson J. M., Bartoshuk L. M. 2004. Associations between taste genetics, oral sensation and alcohol intake. *Physiology & Behavior*, 82, 2-3: 435-445
- Fischer M. E., Cruickshanks K. J., Schubert C. R., Pinto A., Klein R., Pankratz N., Pankow J. S., Huang G. H. 2013. Factors related to fungiform papillae density: the beaver dam offspring study. *Chemical Senses*, 38, 8: 669-677
- Guo S. W., Reed D. R. 2001. The genetics of phenylthiocarbamide perception. *Annals of Human Biology*, 28, 2: 111-142
- Kim U. K., Drayna D. 2005. Genetics of individual differences in bitter taste perception: lessons from the PTC gene. *Clinical Genetics*, 67, 4: 275-280
- Miller I., Reedy F. E. 1990. Quantification of fungiform papillae and taste pores in living human subjects. *Chemical Senses*, 15, 3: 281-294
- Nuessle T. M., Garneau N. L., Sloan M. M., Santorico S. A. 2015. Denver Papillae Protocol for objective analysis of fungiform papillae. *Journal of Visualized Experiments*, 100: 52860, doi: 10.3791/52860: 9 str.
- Piochi M., Dinnella C., Prescott J., Monteleone E. 2018. Associations between human fungiform papillae and responsiveness to oral stimuli: effects of individual variability, population characteristics, and methods for papillae quantification. *Chemical Senses*, 43, 5: 313-327
- Reed D. R., Nanthakumar E., North M., Bell C., Bartoshuk L. M., Price R. A. 1999. Localization of a gene for bitter-taste perception to human chromosome 5p15. *American Journal of Human Genetics*, 64, 5: 1478-1480
- Robino A., Concas M. P., Spinelli S., Pierguidi L., Tepper B. J., Gasparini P., Prescott J., Monteleone E., Toschi T. G., Torri L., Pagliarini E., Gasperi F., Dinnella C. 2022. Combined influence of TAS2R38 genotype and PROP phenotype on the intensity of basic tastes, astringency and pungency in the Italian taste project. *Food Quality and Preference*, 95: 104569, doi: 10.1016/j.foodqual.2022.104569: 14 str.
- Robino A., Mezzavilla M., Pirastu N., Dognini M., Tepper B. J., Gasparini P. 2014. A population-based approach to study the impact of PROP perception on food liking in populations along the silk road. *PLoS ONE*, 9, 3: e91716, doi: 10.1371/journal.pone.0091716: 8 str.

OPTIMIZACIJA ISOLACIJE IN ANALIZA ZUNAJCELIČNEGA MATRIKSA BAKTERIJE *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Natalija PAVLINJEK¹, Blaž JUG², Jerica SABOTIČ³ in Anja KLANČNIK⁴

Povzetek: V naravi se mikroorganizmi običajno organizirajo v biofilme, ki jih tvorijo mikroorganizmi ujeti v matriko iz zunajceličnega matriksa. Slednja je sestavljena iz polisaharidov, proteinov, zunajcelične DNA (eDNA), lipidov in drugih snovi ter lahko predstavlja kar 90 % suhe mase biofilma. Sestavine zunajceličnega matriksa so ključne za vzpostavitev zrelega biofilma in so odgovorne za večino koristi, ki jih imajo bakterije v biofilmu, vključno s preživetjem v različnih okoljih, tudi v živilski industriji. V okviru magistrske naloge smo optimizirali protokol za izolacijo zunajceličnega matriksa pri več bakterijskih vrstah in analizirali njegovo sestavo. Za namen tega prispevka smo se osredotočili le na bakterijo *Campylobacter jejuni*. Patogena bakterija *C. jejuni* predstavlja pomembno tveganje za varnost hrane, saj lahko tvori biofilme, ki povečujejo njeno sposobnost preživetja in infekcijski potencial. Uporabili smo osem fizikalnih in kemijskih metod izolacije zunajceličnega matriksa, temu pa so sledile različne kvalitativne in kvantitativne analize z uporabo gelske elektroforeze in spektroskopije. Ta celovit pristop nam je omogočil ovrednotenje sestave zunajceličnega matriksa glede na prisotnost polisaharidov, proteinov in eDNA. Različne metode izolacije so dale različne izplete izoliranih komponent zunajceličnega matriksa. Najbolj učinkovite so bile metode, ki so združevale centrifugiranje s kemičnimi obdelavami, saj so omogočile izolacijo večjih koncentracij polisaharidov in proteinov. Poleg tega je izolacija z etrsko raztopino omogočila izolacijo visokomolekularne eDNA. Skupno gledano smo razvili izboljšano metodologijo za izolacijo zunajceličnega matriksa bakterije *C. jejuni*. Ker polisaharidi in proteini prispevajo k stabilnosti biofilma in medmikrobni komunikaciji, eDNA pa k prenosu genetskega materiala in virulentnosti, naša študija prispeva k boljšemu razumevanju vztrajnosti tega patogena v živilski industriji.

Ključne besede: *Campylobacter jejuni*, biofilm, zunajcelični matriks, metode izolacije, zunajcelične polimerne snovi

OPTIMIZATION OF ISOLATION AND ANALYSIS OF THE EXTRACELLULAR MATRIX OF *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Abstract: In nature, microorganisms commonly organize into biofilms, which consist of microbial cells embedded in an extracellular matrix. The extracellular matrix is composed primarily of polysaccharides, proteins, extracellular DNA (eDNA), lipids, and other substances, and can account for up to 90% of the dry mass of a biofilm. The components of the extracellular matrix are crucial for the development of a mature biofilm and are responsible for many of the advantages bacteria gain within a biofilm, including enhanced survival in various environments, particularly in the food sector. As part of the master's thesis, we optimized protocols for the isolation of the extracellular matrix from several bacterial species and analyzed its composition. For the purpose of this contribution, we focused solely on the bacterium *Campylobacter jejuni*. The pathogenic bacterium *C. jejuni* poses a significant food safety risk due to its ability to form biofilms that enhance its survival and infective potential. We employed eight different physical and chemical methods to extract the extracellular matrix, followed by various qualitative and quantitative analyses using gel electrophoresis and spectroscopy. This comprehensive approach enabled us to evaluate the composition of the extracellular matrix in terms of polysaccharides, proteins, and eDNA. The isolation methods yielded varying amounts of the extracted components. The most effective methods combined centrifugation with chemical treatments, resulting in the isolation of higher concentrations of polysaccharides and proteins. Additionally, isolation with an ether solution enabled the recovery of high-molecular-weight eDNA. Overall, we developed an improved methodology for the isolation of the extracellular matrix from *C. jejuni*. Since polysaccharides and proteins contribute to biofilm stability and intermicrobial communication, and eDNA plays a role in genetic transfer and virulence, our study provides a better understanding of the persistence of this pathogen in the food industry.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, biofilm, extracellular matrix, isolation methods, extracellular polymeric substances

¹ mag. mol. funkc. biol., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana, e-mail: natalija.pavlinjek@bf.uni-lj.si

² viš. znan. sod. dr., Inštitut »Jožef Stefan«, Odsek za biotehnologijo, Jamova 39, 1000 Ljubljana, e-mail: jerica.sabotic@ijs.si

³ viš. znan. sod. dr., Inštitut »Jožef Stefan«, Odsek za biotehnologijo, Jamova 39, 1000 Ljubljana, e-mail: jerica.sabotic@ijs.si

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

1 UVOD

Po Gramu negativna bakterija *C. jejuni* je eden glavnih povzročiteljev bakterijskega gastroenteritisa in najpogostejši povzročitelj zoonotskih okužb s hrano (EFSA in ECDC, 2023). Čeprav se je predvidevalo, da bakterija *C. jejuni* zunaj gostitelja ne preživi, so ga nedavne študije zaznale v vodi, hrani in biofilmih na mikroplastiki (Tram in sod., 2020; Kolenc in sod., 2024). Tvorba biofilmov je ključna za preživetje bakterij *C. jejuni*, saj ščiti pred okoljskim stresom in povečuje infektivnost (Volk in sod., 2025, Klančnik in sod., 2021). Biofilmi nastajajo na abiotskih in biotskih površinah ter v 48 urah dosežejo kompleksno strukturo (Sabotič in sod., 2023; Volk in sod., 2025). Vsebujejo mikroorganizme v zunajceličnem matriksu, ki ga sestavljajo voda, polisaharidi, proteini, lipidi in eDNA (Karygianni in sod., 2020). Zunajcelični matriks biofilmov pomembno prispeva k odpornosti, saj deluje kot zaščitna pregrada in omogoča horizontalni prenos genov. Vpliva na poroznost, gostoto in hidracijo biofilma ter omogoča nastanek hranilno bogatih mikrookolij (Karygianni in sod., 2020). Dvo- in trivalentni ioni, kot sta Ca^{2+} in Mg^{2+} , stabilizirajo matriks z vezavo na polimere. Sestavo in sintezo matriksa uravnavajo okoljski dejavniki, kot so temperatura, pH in stres (Lu in sod., 2012). Cilj je bil optimizirati protokol za izolacijo zunajceličnega matriksa in ovrednotiti njegovo sestavo. Vključili smo fizikalne in kemijske metode za izolacijo ključnih komponent zunajceličnega matriksa, kot so polisaharidi, proteini in eDNA, z namenom določiti najbolj učinkovite tehnike za izolacijo teh molekul v visokih koncentracijah. Delo smo tudi objavili (Pavlinjek in sod., 2024).

2 METODE

2.1 BAKTERIJE, ZUNAJCELIČNI MATRIKS, CELIČNI LIZAT

Sev *Campylobacter jejuni* ATCC 11168 smo inokulirali na Karmali agar z izbirnimi dodatki in inkubirali 24 ur pri 42 °C v mikroaerofilnih pogojih (5 % O_2 , 10 % CO_2 , 85 % N_2). Čisto kulturo smo nato prenesli na Mueller-Hinton agar in inkubirali čez noč pri enakih pogojih.

Za izolacijo zunajceličnega matriksa smo uporabili 8 metod. Začetni korak je bil strganje biomase iz štirih plošč, ki smo jo prenesli v fosfatni pufer, centrifugirali, odstranili supernatant (SV) in ga filtrirali skozi 0,2 μm filter ter shranili pri –20 °C. Pelet smo nato uporabili za nadaljnjo izolacijo z osmimi metodami: raztopina NaCl (A), centrifugiranje (B), segrevanje v Na_2CO_3 (C), EDTA (D), NaOH (E), kombinacija formaldehida in NaOH (F), kationski izmenjevalec Dowex (G) in etrska raztopina (H). Kot referenčno kontrolo smo pripravili celični lizat, ki smo ga obdelali z EDTA, Triton X-100, sonifikacijo in centrifugiranjem. Vzorce smo shranili pri –20 °C.

2.2 ANALIZA IZOLIRANEGA ZUNAJCELIČNEGA MATRIKSA

Za analizo sestave zunajceličnega matriksa smo določali polisaharide, proteine in eDNA. Polisaharide smo analizirali s fenol-žveplovo-kislinsko metodo. Proteine smo določili s kolorimetričnim testom »DC Protein Assay Kit« in elektroforezo NaDS-PAGE, pri čemer smo uporabili barvanja za detekcijo specifičnih biomolekul: Coomassie Brilliant Blue za proteine, perjudno kislino in Schiffov reagent za glikoproteine in polisaharide, ter Alcianovo modnilo za kisle polisaharide. Prisotnost eDNA smo analizirali z agarozno elektroforezo in SYBR Safe.

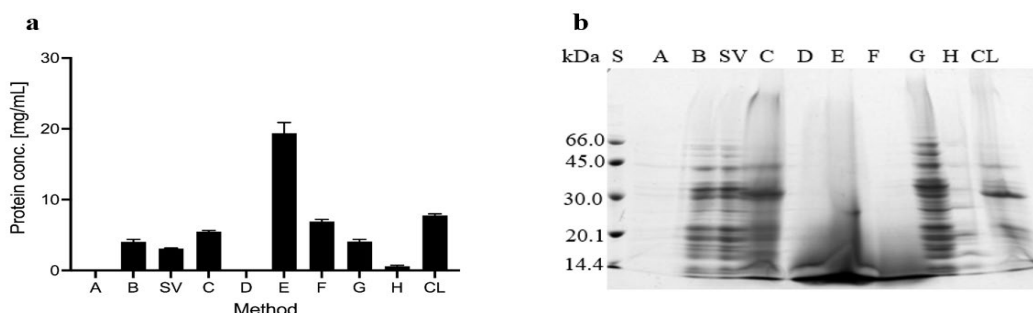
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Po ekstrakciji smo kvantificirali eDNA, proteine in polisaharide za oceno učinkovitosti posameznih izolacijskih metod. Najvišje koncentracije polisaharidov (do 0,5 mg/mL) smo določili pri metodah z NaOH (E) ter centrifugiranjem (SV, B), najnižje pa pri metodah z NaCl (A), EDTA (D) in segrevanjem v Na_2CO_3 (C) (Slika 1a). Prisotnost glikoproteinov smo potrdili z NaDS-PAGE in barvanji s perjudno kislino/Schiffovim reagentom (Slika 1b) ter Coomassie barvilom (Slika 2b), zlasti v vzorcih B, SV, C, G in CL. Barvanje z Alcianovim modrilom (Slika 1c) je pokazalo podobne vzorce kot Coomassie, kar potrjuje prisotnost glikoproteinov. Malo ali nič glikoproteinov nismo zaznali pri metodah A, D in H. Visoko-molekularne kisle polisaharide ali polisaharide s sulfatnimi skupinami smo zaznali v vzorcih B, SV, C, F in G.



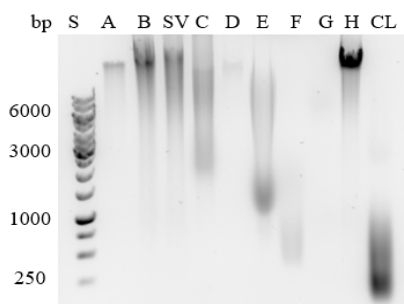
Slika 7: Polisaharidi v izoliranih vzorcih zunajceličnega matriksa. (a) Vsebnost polisaharidov, določena s fenol-žveplovo-kislinsko metodo, prikazane so povprečne vrednosti in odstopanja dveh meritev. **(b)** NaDS-PAGE, barvanje s perjudno kislino in Schiffovim reagentom. **(c)** NaDS-PAGE, barvanje z Alcianovim modrilom. Vzorci so bili pridobljeni z izolacijo z natrijevim kloridom (A), centrifugiranjem (B), izolacijo šibko vezanih komponent zunajceličnega matriksa (SV), segrevanjem v natrijevem karbonatu (C), z EDTA (D), natrijevega hidroksida (E), kombinacijo formaldehida in natrijevega hidroksida (F), kationskim izmenjevalcem Dowex (G) ter etrsko raztopino (H). Preverjen je bil tudi celokupni celični lizat (CL).

Najvišja koncentracija proteinov (Slika 2a) je bila ugotovljena pri izolaciji z NaOH (E), verjetno zaradi denaturacije in obarjanja. V ostalih izolatih in celičnem lizatu so bile vrednosti nižje, večinoma pod 10 mg/mL, pri metodah z NaCl (A) in EDTA (D) pa proteinov nismo zaznali.



Slika 8: Proteini v izoliranih vzorcih zunajceličnega matriksa. (a) Vsebnost proteinov, določena z uporabo kompleta DC Protein Assay. Prikazane so povprečne vrednosti in standardna odstopanja treh meritev. **(b)** NaDS-PAGE elektroforeza in barvanje s Coomassie Brilliant Blue. Vzorci so bili pridobljeni z izolacijo z natrijevim kloridom (A), centrifugiranjem (B), izolacijo šibko vezanih komponent zunajceličnega matriksa (SV), segrevanjem v natrijevem karbonatu (C), uporabo EDTA (D), natrijevega hidroksida (E), kombinacijo formaldehida in natrijevega hidroksida (F), kationskim izmenjevalcem Dowex (G) ter etrsko raztopino (H). Preverjen je bil tudi celokupni celični lizat (CL).

NaDS-PAGE z barvanjem s Coomassie modrilom (Slika 2b) je potrdila prisotnost proteinov v večini vzorcev, razen pri A in H. V izolatih E, D in F so prevladovali proteini nizke molekulske mase (<30 kDa). Analiza eDNA z agarozno elektroforezo (Slika 3) je pokazala visoko-molekularno eDNA v vzorcih H, B, SV, D in A, pri čemer je bil signal najmočnejši pri H. V vzorcu C so bili fragmenti večji od 10 kbp in manjši od 2 kbp, v E med 1–10 kbp, v F med 0,5–2 kbp, v G >6 kbp (šibek trak), v celičnih lizatih pa fragmenti <1 kbp zaradi sonikacije.



Slika 9: Zunajcelična DNA v izoliranih vzorcih zunajceličnega matriksa analizirana z agarozno gelsko elektroforezo. Vzorci so bili pridobljeni z izolacijo z natrijevim kloridom (A), centrifugiranjem (B), izolacijo šibko vezanih komponent zunajceličnega matriksa (SV), segrevanjem v natrijevem karbonatu (C), z EDTA (D), natrijevega hidroksida (E), kombinacijo formaldehida in natrijevega hidroksida (F), kationskim izmenjevalcem Dowex (G) ter z etrsko raztopino (H). Preverjen je bil tudi celokupni celični lizat (CL).

4 ZAKLJUČEK

Različni protokoli izolacije so obogatili različne komponente zunajceličnega matriksa. Najprimernejše so bile metode centrifugiranja (B, SV) in segrevanja v Na_2CO_3 (C), saj so omogočile izolacijo vseh biopolimerov ter so bile enostavne, zanesljive in hitre. Metodi z NaCl (A) in EDTA (D) sta bili manj učinkoviti, saj nista izolirali proteinov ter sta dali nizke vsebnosti eDNA in polisaharidov. NaOH (E) je omogočil izolacijo najvišjih koncentracij proteinov in polisaharidov, vendar v denaturirani obliki. Etrska raztopina (H) je bila najučinkovitejša za izolacijo visokomolekularne eDNA. Izbiro metode je treba prilagoditi nadaljnji analizi; najbolj reprezentativne rezultate zagotavlja kombinacija več metod.

5 ZAHVALA

Delo sta omogočila projekta ARIS J4-60079 in J4-4548 ter programa P4-0116 in P4-0432.

6 VIRI

- EFSA in ECDC. 2023. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFSA Journal, 21: e8442
- Karygianni L., Ren Z., Koo H., Thurnheer T. 2020. Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. Trends in Microbiology, 28: 668–681
- 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
- Kolenc Ž., Kovač Viršek M., Klančnik A., Janecko N. 2024. Microbial communities on microplastics from seawater and mussels: insights from the northern Adriatic Sea. Science of the Total Environment, 949: 175130
- Lu X., Weakley A. T., Aston D. E., Rasco B., Wang S., Konkel M. E. 2012. Examination of nanoparticle inactivation of *Campylobacter jejuni* biofilms using infrared and Raman spectroscopies. Journal of Applied Microbiology, 113: 952–963
- Pavlinjek N., Klančnik A., Sabotič J. 2024 Evaluation of physical and chemical isolation methods to extract and purify *Campylobacter jejuni* extracellular polymeric substances. Frontiers in Microbiology, 15, 1488114: 1–12
- Sabotič J., Janež N., Volk M., Klančnik A. 2023. Molecular structures mediating adhesion of *Campylobacter jejuni* to abiotic and biotic surfaces. Veterinary Microbiology, 287: 109918
- Tram G., Day C. J., Korolik V. 2020. Bridging the gap: a role for *Campylobacter jejuni* biofilms. Microorganisms, 8: 452
- Volk M., Gundogdu O., Klančnik A. 2025. Temporal dynamics of gene expression during the development of *Campylobacter jejuni* biofilms. Microbial Genomics, 11(5), 001387.

ADHEZIJA PLESNI VRSTE *PENICILLIUM EXPANSUM*

Brina PAVLOVIČ¹, Nik MAHNIČ², Rajko VIDRIH³, Klemen BOHINC⁴, Roman ŠTUKELJ⁵, Minka KOVAČ⁶, Marjan BELE⁷ in Barbara JERŠEK⁸

Povzetek: Plesni vrste *Penicillium expansum* povzročajo gnitje sadja in zelenjave ter tvorijo sekundarne metabolite, ki predstavljajo tveganje za varnost živil. Namen raziskave je bil proučiti adhezijo plesni vrste *P. expansum* na materiale, ki se uporabljajo v živilski industriji, saj so raziskave adhezije plesni redke. V prvem delu smo optimizirali metodo določanja adhezije z barvilom kristal vijolično (KV) z izbiro gojišča (sladni agar in krompirjev agar), starosti konidijev (7 in 10 dni) ter valovne dolžine (570 in 584 nm). Ugotovili smo, da je bila večja adhezija pri inokulumu iz 10 dni stare kulture, medtem ko gojišče in valovna dolžina nista bistveno vplivala na rezultate. V nadaljevanju smo proučevali vpliv izbranih dejavnikov. Največja adhezija je bila dosežena pri začetni koncentraciji 10^8 konidijev/ml in po 20 urah inkubacije. Vrsta seva ni bistveno vplivala na adhezijo. Plesni so se uspešno adherirale na vse proučene materiale (polistiren, polipropilen, polietilen visoke gostote (HDPE), polietilen tereftalat (PET), steklo, nerjavno jeklo), pri čemer je bila adhezija največja na polistirenu. Z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM) smo potrdili prisotnost konidijev in micelijev na vseh površinah, razen na nerjavnem jeklu, kjer so bili opaženi le konidiji. Opazili smo tudi zunajcelične polimorfne snovi, zlasti na HDPE, PET in steklu. Ker adhezija vodi v nastanek biofilma, bi preprečevanje adhezije plesni vrste *P. expansum* zmanjšalo verjetnost kontaminacije živil s plesnimi, vendar so potrebne nadaljnje raziskave.

Ključne besede: plesni, *Penicillium expansum*, adhezija, polistiren, polipropilen, polietilen tereftalat, polietilen visoke gostote, steklo, nerjavno jeklo, biofilm

PENICILLIUM EXPANSUM ADHESION

Abstract: Strains of *Penicillium expansum* cause spoilage of fruits and vegetables and produce secondary metabolites that pose a risk to food safety. This study aimed to investigate the adhesion of *P. expansum* to materials commonly used in the food industry, as research on mould adhesion is still limited. In the first part, the crystal violet (CV) staining method for adhesion quantification was optimized by selecting the culture medium (malt agar or potato agar), conidial age (7 or 10 days), and measurement wavelength (570 or 584 nm). Greater adhesion was observed when the inoculum was prepared from a 10-day-old culture, whereas the choice of culture medium and wavelength did not significantly influence the results. We then examined the effects of selected factors on adhesion. The highest adhesion occurred at an initial concentration of 10^8 conidia/ml after 20 hours of incubation. Strain type had no significant impact on adhesion. *P. expansum* adhered successfully to all tested materials — polystyrene, polypropylene, high-density polyethylene (HDPE), polyethylene terephthalate (PET), glass, and stainless steel — with the highest adhesion observed on polystyrene. Scanning electron microscopy (SEM) confirmed the presence of conidia and mycelium on all surfaces except stainless steel, where only conidia were detected. Extracellular polymeric substances were also observed, particularly on HDPE, PET, and glass surfaces. Since adhesion is a key step in biofilm formation, preventing the adhesion of *P. expansum* could reduce the risk of food contamination by moulds; however, further research is needed.

Keywords: moulds, *Penicillium expansum*, adhesion, polystyrene, polypropylene, polyethylene terephthalate, high-density polyethylene, glass, stainless steel, biofilm

¹ mag. ing. živil., Institut "Jožef Stefan", Odsek za znanosti o okolju (O2), Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana, e-pošta: brina.pavlovic@ijs.si

² mag. ing. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: nik.mahnic@bf.uni-lj.si

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: rajko.vidrih@bf.uni-lj.si

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, e-mail: klemen.bohinc@zf.uni-lj.si

⁵ dr., Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, e-mail: roman.stukelj@zf.uni-lj.si

⁶ dr., Omega d.o.o., Dolinškova ulica 8, Ljubljana, e-mail: minka.kovac@omegai-si

⁷ dr., Kemijski inštitut, Hajdrihova 19, Ljubljana, e-mail: marjan.bele@ki.si

⁸ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: barbka.jerssek@bf.uni-lj.si

1 UVOD

V živilski industriji je nadzor nad kvarom in varnostjo živil izjemnega pomena. Med pomembnejše mikrobiološke dejavnike, ki povzročajo kvar živil, sodijo plesni, ki lahko okužijo surovine že na polju, med žetvijo, skladiščenjem ali med predelavo, ter s tem povzročijo velike ekonomske izgube (Tannous in sod., 2018). Poleg vpliva na kakovost izdelkov predstavljajo tudi potencialno tveganje za zdravje potrošnikov, saj lahko tvorijo različne sekundarne metabolite, med katerimi so še posebej problematični mikotoksini, kot sta patulin in citrinin (Rico-Munoz in sod., 2019; Gandia in sod., 2021). Plesni vrste *Penicillium expansum* so pogosto odgovorne za okužbe številnih kmetijskih pridelkov skozi celotno proizvodno verigo – od polja do predelave – pri čemer najpogosteje povzročajo gnilobo in modro plesen jabolk in hrušk (Tannous in sod., 2018; Gandia in sod., 2021).

Do nedavnega tvorba biofilma pri plesnih ni bila prepoznana, saj se njihov razvoj razlikuje od enoceličnih mikroorganizmov, kot so bakterije in kvasovke, in zato biofilm plesni ne ustreza klasični definiciji bakterijskega biofilma. K temu prispeva tudi slabše poznavanje morfologije, fiziologije in interakcij plesni z okoljem (Miranda in sod., 2022; Harding in sod., 2009).

Plesni vrste *P. expansum* so prisotne v zemlji, zraku, notranjih prostorih in številnih živilih (Yu in sod., 2020), uspešno rastejo tudi na različnih gradbenih in industrijskih materialih. To predstavlja posebno tveganje v živilski industriji, kjer so pogoste kontaktne površine materiali, kot so polistiren (PST), polipropilen (PP), polietilen visoke gostote (HDPE), polietilen tereftalat (PET), steklo in nerjavno jeklo (NRJ) (Sharma in sod., 2021). Površine, na katerih pride do tvorbe biofilma, lahko postanejo vir navzkrižne kontaminacije, korozije, biorazgradnje ter prenosa škodljivih snovi v živila.

Namen raziskave (Pavlovič, 2024; Mahnič in sod., 2025) je bil proučiti adhezijo plesni vrste *P. expansum* na pogosto uporabljene embalažne materiale in kontaktne površine v živilskih obratih, z namenom boljšega razumevanja začetnih faz nastanka biofilma. Ker je raziskav na tem področju še vedno malo, so tovrstne študije ključne za učinkovitejše spoprijemanje s težavami, ki jih tvorba biofilmov povzroča v živilski industriji.

2 NASTANEK BIOFILMA PRI PLESNIH

Biofilm predstavlja kompleksno mikrobno skupnost, pritrjeno na površino in obdano z lastno proizvedenimi zunajceličnimi polimernimi snovmi (EPS). Le te močno povezujejo celice znotraj biofilma v kompleksno tridimenzionalno strukturo in omogočajo močno pritrjevanje biofilma na biotske ali abiotske površine. Razvoj biofilma je pri bakterijah in kvasovkah že dobro raziskan, medtem ko tvorba biofilmov pri plesnih še vedno zahteva nadaljnje raziskave. Po navedbah Hardinga in sod., (2009) ter Fernandes in sod., (2019) biofilm, ki ga tvorijo nitaste glive, v popolnosti ne ustreza obstoječim definicijam biofilmov, ki temeljijo na bakterijskih modelih. Predlagani model tvorbe biofilma pri plesnih vključuje 6 faz: adsorpcijo plesni na površino, aktivno pritrjevanje plesni na površino, tvorbo mikro-kolonij I, tvorbo mikro-kolonij II, zorenje in razvoj biofilma ter disperzijo.

Začetek tvorbe biofilma vključuje reverzibilne interakcije med sporami in površino (npr. gravitacijske, hidrofobne, elektrostatske in van der Waalsove sile) ter ireverzibilne interakcije med sporami in substratom (Fernandes in sod., 2019). Adhezija je odvisna od lastnosti plesni (npr. gostota celic, metabolična aktivnost), fizikalnih lastnosti površin (npr. naboj, hidrofobnost, hrapavost) ter okoljskih dejavnikov (npr. pH, temperatura, tok tekočine). Fernandes in sod., (2019) so model tvorbe biofilma dopolnili z začetno fazo "kondicioniranja" površine, kjer pomembno vlogo igrata hidrofobnost in elektrostatske interakcije. Hidrofobnost spor določajo hidrofobini – površinsko aktivni proteini na zračnem miceliju in sporah, ki omogočajo adhezijo plesni na površine. Spore plesni vrste *P. expansum* imajo kontaktni kot, ki značilen za hidrofilne površine ($<65^\circ$), a se lahko kljub temu močno pritrdijo tudi na hidrofobne materiale, kot je cedrov les, kar poudarja kompleksnost dejavnikov, ki vplivajo na pritrjevanje spor (Fernandes in sod., 2019).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 SEVI PLESNI VRSTE *P. expansum* IN PRIPRAVA INOKULUMA

Uporabili smo plesni vrste *P. expansum* iz Mikrobiološke zbirke Laboratorija za mikrobiologijo živil na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (oznake ŽMJ): tipski sev *P. expansum* ŽMJ 497 (CBS 281•97) in divji sev *P. expansum* ŽMJ 464, izoliran iz živila. Za gojenje sevov smo uporabili sladni agar (MEA), krompirjev dekstrozni agar (PDA) in krompirjev dekstrozni bujon (PDB). Seve smo hranili pri -80 °C v 20 % glicerolu. Za pripravo inokuluma smo plesni inokulirali na gojišča MEA in PDA ter inkubirali pri 25 °C do 10 dni. Konidije smo prenesli v fiziološko raztopino (NaCl 0,9 % z 0,05 % Tween 80), dobro premešali in s pomočjo števne ploščice Bürker-Türk prilagodili koncentracijo na zeleno (od 10⁵ do 10⁸ konidijev/ml). Vse poskuse smo izvajali z negerminiranimi konidiji.

3.2 DOLOČANJE ADHEZIJE PLESNI

Uporabljeni materiali so bili: polistiren (PST), polipropilen (PP), polietilen visoke gostote (HDPE), polietilen tereftalat (PET), steklo (S) in nerjavno jeklo (NRJ). Materiale smo razrezali na ustrezne dimenzije, jih razkužili z etanolom (70 %, 30 min) in nato sterilizirali z UV-svetlobo (360 nm, 30 min na vsaki strani). Vsak kos materiala smo uporabili samo enkrat.

Adhezijo *P. expansum* smo najprej določali v mikrotitrski ploščici z metodo barvanja s kristal vijoličnim (KV). V testne vdolbinice smo dodali inokulum plesni v PDB (200 µl), kontrolne vdolbinice pa napolnili le z medijem PDB. Inkubirali smo 20 oz. 40 ur pri 25 °C.

Za določanje adhezije plesni na različne materiale smo uporabili prilagojeno metodo v mikrotitrski ploščici. V vsak testni vzorec smo poleg inokuluma ali kontrolnega medija dodali tudi kos testnega materiala (0,5 × 0,5 cm; pri nerjavnem jeklu diski s premerom 0,5 cm). Po 20 ali 40-urni inkubaciji pri 25 °C smo materiale prestavili v novo mikrotitrsko ploščico in izvedli enak postopek barvanja s KV. Meritve absorbance nismo izvedli neposredno, saj smo materiale odstranili iz ploščice, da bi se izognili motnjam pri merjenju.

Po 15 minutni inkubaciji pri sobni temperaturi smo nepritrjene konidije odstranili, vdolbinice trikrat sprali s sterilno destilirano vodo, ter jih posušili (60 °C, 10 min) in obarvali s 0,5 % raztopino kristal vijoličnega (200 µl, 15 min pri sobni temperaturi). Po ponovnem pranju in sušenju smo v vsako vdolbinico dodali 33 % očetno kislino, dobro premešali (1 min, 600 rpm) in izmerili absorbanco pri 570 oz. 584 nm z mikrotitrskim čitalcem. Adhezijo smo izražali kot razliko povprečnih absorbanc med testnimi in kontrolnimi vzorci ($\Delta\bar{A}$).

3.3 VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Za opazovanje adhezije smo uporabili vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Koščke materialov smo 24 ur inkubirali z inokulumom (10⁶ konidijev/ml) v PDB pri 25 °C, nato jih trikrat sprali in 24 ur sušili v laminarnem toku pri sobni temperaturi. Opazovanja SEM (FE-SEM Zeiss Ultra Plus, 1,00 kV, WD 4 mm) smo izvedli brez dodatne obdelave vzorcev.

3.4 FIZIKALNE LASTNOSTI MATERIALOV

Polistiren, polipropilen, polietilen visoke gostote, polietilen tereftalat, steklo in nerjavno jeklo smo okarakterizirali z določitvijo mejnega kota (tenziometer Attension Theta (Biolin Scientific, Gothenburg, Švedska), hrapavosti (profilometer Taylor-Hobson Talsurf) in zeta potenciala (SurPASS 2, Anton Paar GmbH, Graz, Avstrija).

4 REZULTATI

Analizirali smo naslednje dejavnike: gojišče uporabljeno za določitev adhezije plesni in starost plesni za pripravo inokuluma plesni, ter valovno dolžino pri kateri smo izmerili absorbanco barvila kristal vijolično. Dobljeni rezultati so služili optimizaciji metode. Po enakem postopku smo analizirali tudi vpliv površine, čas adhezije, vrsto seva, začetno število konidijev in modro LED-svetlobo na adhezijo.

4.1 OPTIMIZACIJA METODE

Plesni smo gojili na gojiščih MEA in PDA pri 25 °C, 7 oziroma 10 dni. Ugotovili smo, da se inokulum konidijev, ki je bil pripravljen iz 10 dni starih plesni, adherira močnejše kot inokulum konidijev pripravljen iz plesni stare 7 dni, ne glede na uporabljeno gojišče. Adhezija plesni, določena z meritvami absorbance pri 570 nm in 584 nm, se je razlikovala le pri enem vzorcu, zato smo nadaljnje meritve izvajali pri 570 nm.

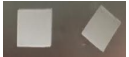
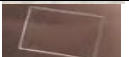
4.2 VPLIV IZBRANIH DEJAVNIKOV NA ADHEZIJO PLESNI VRSTE *P. EXPANSUM*

Med sevoma *P. expansum* ŽMJ 497 (tipski sev) in ŽMJ 464 (sev iz živila) ni bilo razlik v adheziji, ne glede na starost kulture ali uporabljeno gojišče, zato smo za nadaljnje raziskave uporabili tipski sev. Ponovno smo potrdili tudi, da je adhezija večja pri starejših (10 dni) konidijih.

Ugotovili smo, da se adhezija plesni vrste *P. expansum* na polistiren povečuje z večjo začetno koncentracijo konidijev, pri čemer je bila adhezija največja pri 10⁸ K/ml, medtem ko pri koncentracijah 10⁵ in 10⁶ K/ml adhezije v večini primerov nismo zaznali. Tudi pri 10⁷ K/ml je bila adhezija občutno manjša kot pri 10⁸ K/ml. Zato smo za nadaljnje eksperimente izbrali koncentracijo 10⁸ K/ml. V primerjavi z našim delom so druge raziskave uporabile nižje koncentracije (10⁵–10⁷ K/ml), vendar so pri tem pogosto uporabljali bolj občutljive metode, kot sta MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-dipeniltetrazolijev bromid) ali fluorescenčno barvanje, kar lahko pojasni razlike v zaznavi adhezije.

Preverili smo, ali podaljšani čas inkubacije vpliva na adhezijo plesni vrste *P. expansum* ŽMJ 464 na steklo in nerjavno jeklo. Rezultati so pokazali, da je bila adhezija po 20 urah večja kot po 40 urah, saj se je na steklu po daljšem času zmanjšala (čeprav razlika ni bila statistično značilna), na nerjavnem jeklu pa po 40 urah adhezije nismo več zaznali. To kaže, da daljša inkubacija ne pomeni nujno boljše pritrditve konidijev.

Preglednica 1: Fizikalne lastnosti materialov

Material	Rob površine	Barva	^a Mejni kot	^b Hrapavost	^c Zeta potencial	Adhezija	Slika
PST	Hrapav	Prozorna	71,34 ± 1,42	35,1	- 43	Prisotna (1-najvišja)	
PP	Gladek	Umazano bela	92,79 ± 7,55	641	-22	Prisotna (2)	
HDPE	Gladek	Bela	96, 06 ± 5,59	238	-38	Prisotna (3)	
PET	Gladek	Prozorna	73,55 ± 6,59	89,1	-59	Prisotna (5)	
S	Hrapav	Prozorna	27,62 ± 5,98	13,8	-42	Prisotna (4)	
NRJ	Gladek	Sivo-srebrna	78,68 ± 4,35	144	-30	Prisotna (6-najnižja)	

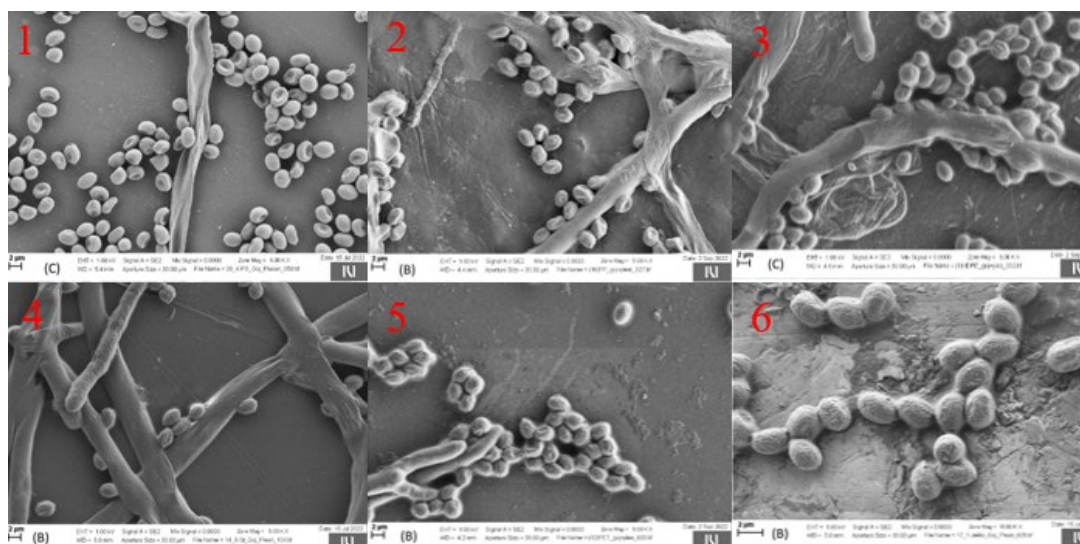
Legenda: PST: polistiren; PP: polipropilen; HDPE: polietilen visoke gostote; PET: polietilen tereftalat; S: steklo; NRJ: nerjavno jeklo; ^a Mejni kot (°) ± SD; ^baritmetična srednja hrapavost (Ra); ^czeta potencial pri pH 5,0 materialov

Modra LED-svetloba je nekoliko zmanjšala adhezijo plesni vrste *P. expansum* na polistiren, vendar ta učinek ni bil statistično značilen ($p > 0,05$). Ker smo adhezijo določali pri konidijih in ne miceliju, je manjši učinek lahko posledica večje odpornosti spor, kar potrjuje tudi literatura. Možna razlaga je tudi nizka gostota toka fotonov (102,49 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$), ki je bila bistveno nižja od tistih, pri katerih so drugi avtorji zaznali zaviralni učinek. Sklepamo, da so konidiji *P. expansum* v naših razmerah pokazali večjo odpornost proti modri LED-svetlobi.

Adhezija plesni vrste *P. expansum* je močno odvisna od vrste površine, pri čemer smo največjo adhezijo določili na PST, nižjo na PP, HDPE, steklu, PET in nerjavnem jeklu (Preglednica 1). Kljub temu da so konidiji plesni vrste *P. expansum* hidrofilni (kontaktni kot $\sim 45^\circ$), je bila adhezija večja na hidrofobnih površinah, kar nakazuje, da hidrofilno-hidrofobne interakcije niso ključni dejavnik pritrjevanja. Pomembnejšo vlogo pri adheziji imajo najverjetneje kislinsko-bazične in elektrostatične interakcije med površino in mikrobnimi celicami. Primerjava z rezultati iz literature (Amiri in sod., 2005; Husseiny in sod., 2014; Fernandes in sod., 2019) dodatno potrjuje, da ni enostavne povezave med kontaktnim kotom in stopnjo adhezije ter da imajo različne vrste znotraj rodu *Penicillium* različno sposobnost pritrjevanja na posamezne materiale.

Za določanje adhezije smo uporabili metodo s kristal vijoličnim (KV) v mikrotitrski ploščici, ki omogoča kvantifikacijo vezanih konidijev, micelija in EPS. Metoda je hitra, enostavna in primerna za večje število vzorcev, vendar ima nekatere omejitve, kot so izguba slabo pritrjenih celic med pranjem, občutljivost na sedimentacijo, slaba ponovljivost in potreba po visoki celični gostoti.

Dodatno smo uporabili tudi vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM), ki sicer ne omogoča kvantifikacije, vendar omogoča vizualizacijo kompleksnih struktur pri zelo visokih povečavah (do 30.000 $\times$). Prisotnost *P. expansum* na smo potrdili na vseh testiranih materialih (Slika 1).



Slika 10: Konidiji plesni vrste *P. expansum* ŽMJ 464 adherirani na preiskovanih površinah

Legenda: 1-polistiren pri 5.000x povečavi; 2-polipropilen pri 5.000x povečavi; 3-polietilen visoke gostote pri 5.000x povečavi; 4-steklo pri 5.000x povečavi; 5-polietilen tereftalat pri 5.000x povečavi; 6-nerjavno jeklo pri 10.000x povečavi

Pomembno vlogo imajo lahko tudi hidrofobini – majhni površinsko aktivni proteini, prisotni na konidijih in zračnih hifah, ki vplivajo na adhezijo, rast in razvoj gliv. Opazovanja z mikroskopijo so pokazala prisotnost EPS okrog konidijev na PET (Slika 1 (5)), kar dodatno potrjuje možnost vključenosti hidrofobinov v proces adhezije.

5 ZAKLJUČEK

V magistrski nalogi in raziskavi smo proučevali adhezijo plesni *Penicillium expansum* na različne materiale, pogosto prisotne v živilski industriji, ter vpliv različnih dejavnikov na ta proces. Adhezijo smo določali z metodo barvanja s kristal vijoličnim, ki smo jo predhodno optimizirali. Ugotovili smo, da je bila adhezija večja pri 10 dni starih konidijih kot pri 7 dni starih, ne glede na uporabljeno gojišče (MEA ali PDA). Vrsta seva in modra LED-svetloba nista imeli vpliva na adhezijo. Večje začetne koncentracije konidijev (10^8 K/ml) so povzročile večjo adhezijo, medtem ko je bil daljši čas adhezije (40 h) povezan z njenim zmanjšanjem v primerjavi s krajšim časom (20 h).

Konidiji so se uspešno adherirali na vseh testiranih materialih, pri čemer je bila adhezija največja na PST, nekoliko nižja pa na PP, HDPE, steklu, PET in nerjavem jeklu. S SEM smo potrdili prisotnost konidijev na vseh površinah in opazili razlikovanje morfologije glede na vrsto materiala.

Povzamemo lahko, da se plesni vrste *P. expansum* učinkovito adherirajo na različne površine in da na stopnjo adhezije vplivajo številni dejavniki. Ključni med njimi so začetna koncentracija konidijev, starost kulture in vrsta površine. Za bolj celovito razumevanje mehanizmov adhezije bi bilo smiselno v nadaljnjih raziskavah vključiti več sevov *P. expansum*, druge vrste iz rodu *Penicillium*, širši nabor materialov ter kombinacijo različnih metod za določanje adhezije.

6 VIRI

- Fernandes S., Chaves Simões L., Lima N., Simões M. 2019. Adhesion of filamentous fungi isolated from drinking water under different process conditions. *Water Research*, 164: 114951, doi: 10.1016/j.watres.2019.114951: 10 str.
- Gandia M., Kakar A., Giner-Llorca M., Holzkneckt 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. *Journal of Fungi*, 7, 6: 449-462
- Harding M. W., Marques L. L. R., Howard R. J., Olson M. E. 2009. Can filamentous fungi form biofilms? *Trends in Microbiology*, 17, 11: 475-480
- Mahnič N., Pavlovič B., Vidrih R., Bohinc K., Štukelj R., Kovač M., Bele M., Jeršek B. *Penicillium expansum* adhesion to materials used in food industry. *The Journal of Adhesion*, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218464.2025.2499549>
- Miranda A., Leães G. F., Copetti M. V. 2022. Fungal biofilms: insights for the food industry. *Current Opinion in Food Science*, 46: 100846, doi: 10.1016/j.cofs.2022.100846: 7 str.
- Pavlovič B. 2022. Adhezija plesni vrste *Penicillium expansum*. Magistrsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=140483&lang=slv>
- Rico – Munoz E., Samson R. A., Houbaken J. 2019. Mould spoilage of foods and beverages: using the right methodology. *Food Microbiology*, 81: 51-62
- Sharma S., Jaiswal A. K., Duffy B., Jaiswal S. 2021. Food contact surfaces: challenges, legislation and solutions. *Food Reviews International*, 38, 7: 1485-1512
- Tannous J., Keller N. P., Atoui A., El Khoury A., Lteif R., Oswald I. P., Puel O. 2018. Secondary metabolism in *Penicillium expansum*: Emphasis on recent advances in patulin research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 12: 2082-2098
- Yu L., Qiao N., Zhao J., Zhang H., Tian F., Zhai Q., Chen W. 2020. Postharvest control of *Penicillium expansum* in fruits: A review. *Food Bioscience*, 36: 100633, doi: 10.1016/j.fbio.2020.100633: 11 str.

MODULACIJA ADHEZIJE BAKTERIJ *CAMPYLOBACTER* IN *LISTERIA* NA MODELNIH POVRŠINAH

Maria PESTEREAN¹, Blaž JUG², Jerica SABOTIČ³ in Anja KLANČNIK⁴

Povzetek: Patogene bakterije rodu *Campylobacter* in *Listeria* so prenosljive s hrano. Sposobne so adhezije na različnih površinah v industriji, kar predstavlja prvo fazo pri nastanku biofilma. Biofilm celice zaščiti pred neugodnimi pogoji, ter jim omogoči preživetje in obstojnost v prehranjevalni verigi, kjer lahko pride do navzkrižne kontaminacije in prenosa do naslednjega gostitelja. Svetovna zdravstvena organizacija poroča o porastu pojavnosti kampilobakterioze in listerioze kot posledice uživanja nezadostno obdelanega kontaminiranega mesa, mleka ali vode. V našem delu smo ovrednotili adhezijo bakterij vrst *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* in *Listeria innocua* na: (i) modelni abiotski površini materiala polistiren prisotnega v prehrambenih obratih, (ii) na modelnih biotskih površinah mucin, fibronektin in kolagen, ki so prisotni v humanem prebavnem traktu. V nadaljevanju smo ovrednotili adhezijo na biotske ter abiotske površine po dodatku 10 glivnih lektinov. Rezultati so pokazali različno oziroma specifično sposobnost adhezije med bakterijami *Campylobacter* ter *Listeria*, ter tudi večjo sposobnost adhezije na biotske površine. Izpostavimo lahko lektina Tectonin2 (bakterije *C. jejuni*) in ABL (bakterije *L. monocytogenes* in *L. innocua*), ki predstavljata potencialno učinkovino naravnega izvora ter usmerjata razvoj novih strategij nadzora nad patogenimi bakterijami preko zmanjševanja oziroma preprečevanja adhezije.

Ključne besede: *Campylobacter*, *Listeria*, adhezija, lektini, modelna (a)biotska površina

ADHESION OF BACTERIA *CAMPYLOBACTER* AND *LISTERIA* ON MODEL SURFACES

Abstract: Pathogenic bacteria of the genus *Campylobacter* and *Listeria* are food-borne bacteria capable of adhering to various inert surfaces used in industry, which is the first stage of biofilm formation. The biofilm protects the cells from adverse conditions and allows them to survive and remain in the food chain, where cross-contamination and transmission to the next host can occur. The World Health Organization reports an increase in campylobacteriosis and listeriosis as a result of consumption of inadequately processed contaminated meat, milk or water. In the Master thesis, we investigated the adhesion of *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* bacteria on: (i) abiotic model surfaces of polystyrene found in food crops, (ii) biotic model surfaces of mucin, fibronectin and collagen found in the human digestive tract. In the following, we investigated the modulation of adhesion to biotic and abiotic surfaces after addition of 10 fungal lectins. The results showed a different/specific ability of adhesion between *Campylobacter* and *Listeria*, and a greater ability of adhesion on biotic surfaces. Thus, the lectins Tectonin2 (*C. jejuni*) and ABL (*L. monocytogenes* in *L. innocua*) represents an effective agent of natural origin that allow the development of new control strategies against pathogenic bacteria by reducing/preventing adhesion.

Keywords: *Campylobacter*, *Listeria*, adhesion, lectins, model (a)biotic surface

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: maria.pesterean24@gmail.com

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

³ viš. znan. sod. dr., Inštitut »Jožef Stefan«, Odsek za biotehnologijo, Jamova 39, 1000 Ljubljana, e-mail: jerica.sabotic@ijs.si

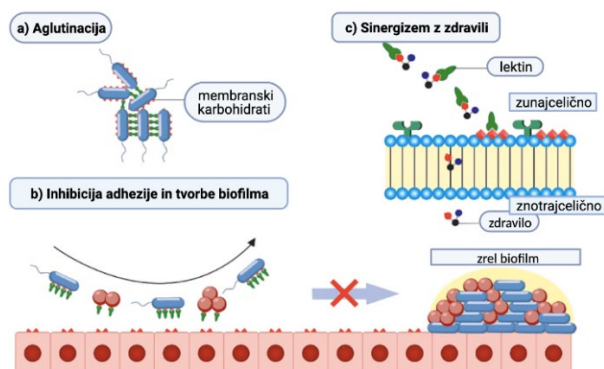
⁴ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: anja.klancnik@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Bakterije *C. jejuni* so najpogostejši povzročitelj bakterijskega gastroenteritisa v Evropi in kampilobakterioze, ki se razvije ob zaužitju nezadostno toplotno obdelanega perutninskega mesa, mleka ali vode (Bronnec in sod., 2016). Bakterije *Listeria monocytogenes* povzročajo listeriozo, ki se prenaša preko kontaminiranega mesa, mleka, morskih sadežev ter svežega sadja in zelenjave (Chlebic in Slizewska, 2018). Adhezija bakterij na površine je resna težava z ekonomskega in zdravstvenega vidika, saj je prva stopnja pri tvorbi biofilma (Khelissa in sod., 2017). V našem delu smo ovrednotili sposobnost adhezije bakterij *C. jejuni*, *L. monocytogenes* in *L. innocua* na abiotski površini polistiren ter na modelnih biotskih površinah mucin, fibronektin in kolagen. Ovrednotili smo tudi vpliv lektinov na adhezijo (Jug in sod., 2024; Janež in sod., 2024).

2 MODULACIJA ADHEZIJE KOT NOVE STRATEGIJE NADZORA

Tvorba biofilmov je ključna za preživetje bakterij *C. jejuni*, saj jih varuje pred okoljskim stresom in povečuje njihovo infektivnost (Volk in sod., 2025; Klančnik in sod., 2021). Bakterije *C. jejuni* se lahko vežejo na abiotske (npr. nerjaveče jeklo, steklena vlakna, plastika) in biotske (npr. človeške in živalske modelne celice) površine (Klančnik in sod., 2020; 2021). Mehanizmi adhezije in tvorbe biofilma še niso povsem pojasnjeni, odvisni pa so od: bakterijskih celic in lastnosti površin, ter okoljskih dejavnikov. Naravne učinkovine, kot so lektini iz gob, so obetavna alternativa za zmanjšanje adhezije in tvorbe biofilma, saj ne povečujejo odpornosti bakterij proti antibiotikom (Ramić in sod., 2022).



Slika 1: Mehanizmi bioaktivnosti lektinov proti bakterijam. a) Aglutinacija; b) Zaviranje adhezije in tvorbe biofilma; c) Sinergizem z zdravili (povzeto po Fonseca in sod., 2022)

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

Vpliv lektinov na adhezijo smo ovrednotili pri bakterijah *C. jejuni* NCTC 11168, *L. monocytogenes* ŽM58 in *L. innocua* ŽM39 z metodo kultivacije adheriranih celic na trdnem gojišču. Adhezijo smo testirali na abiotski (polistiren) in biotskih površinah (mucin, fibronektin, kolagen). Lektine smo dodali v koncentracijah 250, 125, 62,5 in 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Na biotskih površinah smo testirali samo najvišjo koncentracijo (250 $\mu\text{g/mL}$). V raziskavo je bilo vključenih 10 lektinov iz gob: AAL (*A. aurantia*), ABL (*A. bisporus*), CCL2, CGL2, CGL3, CML1, CnSLB2 (*C. nebularis*), MOA (*M. areades*), TAP1 (*S. macrospora*) in Tectonin2 (*L. bicolor*). Lektini CCL2, CGL2, CGL3 in CML1 izvirajo iz *C. cinerea*; AAL in ABL sta komercialna, ostali so bili izolirani in očiščeni na IJS (Preglednica 1).

Preglednica 1: Pregled vpliva lektinov na adhezijo bakterij *L. monocytogenes* ŽM58 in *L. innocua* ŽM39 na površinah polistiren, mucin, fibronektin in kolagen in odstotek zmanjšanja adhezije

Bakterije	Podlaga	Koncentracija lektina (μg/mL)	AAL	ABL	CCL2	CGL2	CGL3	CML1	CnSLB2	MOA	TAP1
<i>L. monocytogenes</i> ŽM58	Polistiren	250	99,98***	99,97***	/	68,30***	/	/	/	/	78,45***
		125	99,95***	99,74***	/	67,82***	/	/	/	/	76,12***
		62,5	99,95***	99,58***	/	66,91***	/	/	/	/	/
		32,25	99,83***	99,41***	/	/	57,84*	/	/	/	/
	Mucin	250	/	NT	/	77,43***	/	/	/	/	56,10*
	Fibronektin		/	NT	43,15**	36,59*	/	37,39*	54,30***	51,51***	/
	Kolagen		90,74***	NT	91,02***	97,70***	82,15***	98,79***	84,26***	83,17***	NT
<i>L. innocua</i> ŽM39	Polistiren	250	97,82***	100,0***	/	99,15***	/	93,66***	/	87,41***	96,28***
		125	91,01***	99,99***	/	98,92***	/	66,08*	75,53***	79,11***	94,38***
		62,5	/	99,86***	/	93,35***	/	63,03*	84,03***	78,62***	94,63***
		32,25	/	91,07***	/	90,18***	/	/	66,24***	73,08***	92,41***
	Mucin	250	61,41***	NT	/	85,75***	43,36**	85,11***	82,54***	62,78***	85,67***
	Fibronektin		/	NT	60,93*	/	/	83,13***	/	80,36***	86,48***
	Kolagen		48,12*	NT	91,50***	55,07*	/	89,50***	58,33***	71,49***	NT
<i>C. jejuni</i> NCTC 11168	Polistiren	250	/	99,37***	/	/	/	/	/	84,38***	/
		125	/	99,16***	/	/	/	/	/	85,50***	/
		62,5	/	/	/	/	/	/	/	80,85***	/
		32,25	/	/	55,56*	/	/	/	/	/	/
	Mucin	250	89,79***	NT	/	97,23***	/	85,83***	/	96,40***	/
	Kolagen		48,12*	NT	91,50***	55,07*	/	89,50***	58,33***	71,49***	NT
	Kolagen		48,12*	NT	91,50***	55,07*	/	89,50***	58,33***	71,49***	NT

Legenda: AAL, lektin iz *A. aurantia*; ABL, lektin *A. bisporus*; CCL2, lektin *C. cinerea* 2; CGL2, galektin *C. cinerea* 2; CGL3, galaktinu podoben lektin *C. cinerea* 3; CnSLB2, saharoza vezavni lektin *B. C. nebularis*; CML1, fukoza vezavni lektin *C. cinerea*; MOA, aglutinin *M. oreades*; TAP1, aktinoporinski tip lektina; NT, ni bilo testirano; /, ni bilo statistično značilnega zmanjšanja adhezije; podatki so podani z odstotkom (%) zmanjšanja adhezije; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Adhezijo bakterij na polistiren, mucin, fibronektin in kolagen smo ovrednotili v treh tehničnih in treh bioloških ponovitvah. Adhezija bakterij je bila statistično značilno različna glede na vrsto površine in bakterijski rod. Bakterije *C. jejuni* so pokazale višjo adhezijo na polistiren v primerjavi z listerijami, med sevi listerij ni bilo razlik. Pri primerjavi med abiotsko in biotskimi površinami so bakterije *C. jejuni* pokazale višjo adhezijo na kolagen, *L. innocua* prav tako na kolagen, medtem ko pri *L. monocytogenes* ni bilo statistično značilnih razlik.

Za ovrednotenje vpliva lektinov na adhezijo bakterij smo preverili ali dodatek lektinov vpliva na sposobnost adhezije testiranih bakterij. Učinek lektinov smo preverili na površinah polistiren ter mucin, fibronektin in kolagen. Dobljeni rezultati so pokazali, da imajo izbrani lektini potencialne protiadhezijske lastnosti. Poleg tega je lektin Tectonin2 pri koncentraciji 250 μg/mL statistično značilno zmanjšal adhezijo bakterije *C. jejuni* na vse testirane biotske površine: na mucin za 98,62 %, na fibronektin za 88,08 % in na kolagen za 56,89 %.

4 ZAKLJUČEK

V magistrski nalogi smo ovrednotili adhezijo bakterij *C. jejuni*, *L. monocytogenes* in *L. innocua* na abiotski (polistiren) in biotskih (mucin, fibronektin, kolagen) površinah. Ugotovili smo vrstno specifične razlike v adheziji ter večjo sposobnost pritrjevanja na biotske površine. Dodatek lektinov je vplival na zmanjšanje adhezije. Najbolj učinkovita sta bila lektina Tectonin2 in MOA za bakterije *C. jejuni* ter ABL za *Listeria* spp., ki je pri polistirenu dosegel > 99 % zmanjšanje adhezije (Jug in sod., 2024; Janež in sod., 2024). Rezultati potrjujejo potencial lektinov kot naravnih učinkovin za preprečevanje bakterijske adhezije.

5 ZAHVALA

Delo so omogočilo projekti ARIS (J4-60079, J4-4555, J4-4548) ter programa P4-0116 in P4-0432.

6 VIRI

- Bronnec V., Turončová H., Bouju A., Cruveiller S., Rodrigues R., in s. 2016. Adhesion, Biofilm Formation, and Genomic Features of *Campylobacter jejuni* Bf, an Atypical Strain Able to Grow under Aerobic Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1002
- Chlebicz A., Slizewska K. 2018. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15: 863
- Janež N., Ladanyi M., Sterniša M., Jug B in sod., 2024. Exposure to specific fungal lectins during adhesion impairs biofilm formation of *Listeria* on polystyrene. *Microbial biotechnology*. 17, 12, 70040: 1-13
- Jug B Šikić-Pogačar M., Sterniša M. in sod., 2024. Modulation of *C. jejuni* adhesion to biotic model surfaces by fungal lectins and protease inhibitors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1391758: 1-10
- Khelissa S.O., 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 Sciences*, 8, 9: 3326-3346
- Klančnik A., Gobin I., Jeršek B. Smole Možina S., Vuković D., Tušek Žnidarič M., Abram M. 2020. Adhesion of *Campylobacter jejuni* Is Increased in Association with Foodborne Bacteria. *Microorganisms*, 8, 2: 201
- Klančnik A., Šimunović K., Sterniša M., Ramić D., Smole Možina S., Bucar F. 2020. Anti-adhesion activity of phytochemicals to prevent *Campylobacter jejuni* biofilm formation on abiotic surfaces. *Phytochemistry Reviews*, 20, 55–84
- 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
- Nikitina V.E., Loshchinina E., Vetchinkina E.P. 2017. Lectins from Mycelia of Basidiomycetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 7: 1334
- Ramić D., Bucar F., Kunej U., Dogša I., Klančnik A., Smole Možina S. 2022. Antibiofilm Potential of Lavandula Preparations against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87, 19: e01099-21
- Shi X., Zhu X. 2009. Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20: 407–413
- Volk M., Gundogdu O., Klančnik A. 2025. Temporal dynamics of gene expression during the development of *Campylobacter jejuni* biofilms. *Microbial Genomics*, 11(5), 001387.
- Zeraik A.E., Nitschke M. 2012. Influence of Growth Media and Temperature on Bacterial Adhesion to Polystyrene Surfaces. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 4: 569-576

OPTIČNA VOLUMETRIČNA ANALIZA OBROKOV

Alen PUNGERTNIK¹, Matija MILANIČ², Luka ROGELJ³, Evgen BENEDIK⁴ in Iztok PRISLAN⁵

Povzetek: Vrednotenje prehranskega vnosa v zdravstvenih ustanovah je ključnega pomena za usmerjeno in pravočasno prehransko in zdravstveno intervencijo. Klasične metode, ki se uporabljajo danes, ne omogočajo objektivnega avtomatiziranega pristopa k meritvam prehranskega vnosa. V tem prispevku smo raziskali izvedljivost avtomatizirane cenovno učinkovite optično volumetrične analize na osnovi 3D-profilometrije in preučuje merilno napako sistema ter napako metode. Uspešno zasnovan prototip dokazuje, da je ključni korak metode, oceno mase iz 3D-posnetka, možno popolnoma avtomatizirati za živila kompatibilna s sistemom. Merilna napaka sistema je manjša od primerljivih sistemov iz literature ($CV = 6,6\%$).

Ključne besede: prehranski vnos, 3D, profilometrija, zdravstvena ustanova

OPTICAL VOLUMETRIC MEAL ANALYSIS

Abstract: Evaluation of dietary intake in healthcare facilities is crucial for targeted and timely nutritional and health intervention. Current classical methods do not allow for an objective automated approach to dietary intake measurements. This paper explores the feasibility of automated, cost-effective optical volumetric analysis based on 3D-profilometry and assesses measurement and method errors. Our successful prototype demonstrates that the key step of the method, estimating mass from a 3D-image, can be fully automated for foods compatible with the system. The measurement error of the system is smaller than comparable systems from the literature ($CV = 6.6\%$).

Keywords: food intake, 3D, profilometry, clinic

¹ mag. inž. preh. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: alen.pungertnik@gmail.com

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Oddelek za fiziko, Jadranska 19, Ljubljana, e-mail: matija.milanic@fmf.uni-lj.si

³ dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Oddelek za fiziko, Jadranska 19, Ljubljana, e-mail: luka.rogelj@fmf.uni-lj.si

⁴ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, evgen.benedik@bf.uni-lj.si

⁵ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, iztok.prislan@bf.uni-lj.si

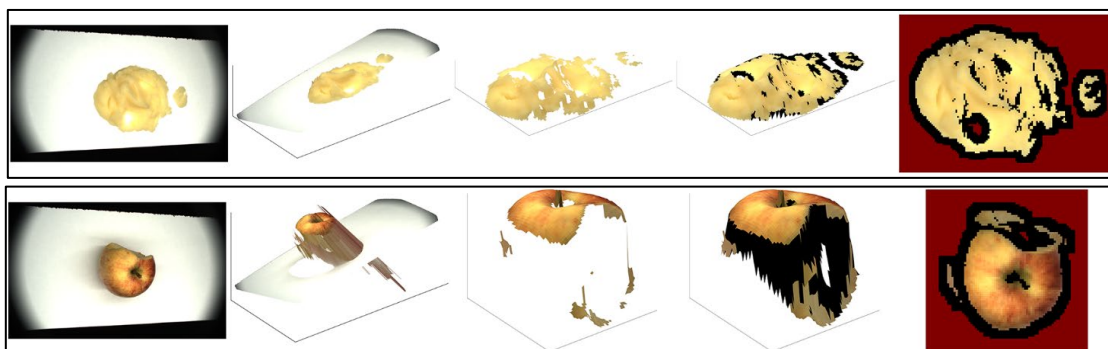
1 UVOD

Eden izmed novejših principov uporabe senzorjev za določanje prehranskega vnosa je uporaba kombinacije optičnega zajema podatkov in avtomatizirane računalniške obdelave. Prednost takšnih metod je potencial za popolnoma avtomatsko identifikacijo živil, segmentacijo živil v obroku in meritve količin posameznih živil ter analizo zbranih podatkov (Zhu in sod., 2008). Zaradi možnosti avtomatizacije vseh korakov imajo takšne metode, za razliko od klasičnih, velik potencial za enostavno in cenovno učinkovito povečanje obsega ob prenosu v prakso (eng. upscaling). Slabost takšnih metod danes je njihova relativna kompleksnost. Na trgu zato danes še ni validirane rešitve, ki bi ponujala robusten sistem spremljanja prehranskega vnosa z avtomatizirano optično metodo.

Projektorska metoda profilometrije, ki smo jo uporabili pri naši raziskavi, združuje dve metodi profilometrije (phase-shift in gray-code), ki se medsebojno dopolnjujeta. Glavna omejitev pristopa je ta, da pridobljen oblak točk ne zajema celotne 3D-površine predmeta, ampak le 2D-profil predmeta glede na zorni kot kamere. Na preostalih delih površine ostanejo v profilu luknje, ki jih pred izračunom volumna zapolnimo z matematičnimi ocenami, kot je interpolacija. Luknje povzročijo pozitivno merilno napako in se pojavijo v večji meri kadar ima profil živila predele z veliko strmino ali so pod živilom previsi ali zračni žepi.

2 MATERIAL IN METODE

Za zajemanje 3D-podatkov je bil uporabljen predelan multispektralni sistem, ki je bil prvotno po meri sestavljen za doktorsko delo z naslovom *Zaznavanje artritisa malih sklepov s popravljenimi spektralnimi slikami* (Rogelj, 2022). Sistem upravlja računalnik (platforma x86) z naloženim Windows 10 operacijskim sistemom in MATLAB R2016b. V raziskavo smo vključili 8 različnih živil, ki smo jih razporedili v dve skupini: homogena živila (goveji zrezek, orehi, pire in riž) ter heterogena živila (solata, brokoli, piščančje perutničke in jabolko). Analiza je bila avtomatizirana in sestavljena iz serije zaporednih programskih modulov, ki se izvajajo na računalniku, ki ni del multispektralnega sistema, s programom MATLAB R2022b. Vizualizaciji primerov analiz idealnega živila in težavnega živila je na sliki 1.



Slika 1: Avtomatizirana analiza krompirjevega pireja (zgoraj) in jabolka (spodaj). (1) RGB slika; (2) 3D-RGB-profil; (3) obdelan profil; (4) obdelan profil z zapolnjenimi luknjami; (5) tloris. Krompirjev pire je primer idealnega živila, jabolko pa je zaradi previsov primer težavnega živila za profilometrijo.

Končno obdelava podatkov smo izvedli v programu Microsoft Excel. Preračun volumna v maso smo izvedli s pomnoževanjem s faktorjem (gostota). Faktorji za posamezna živila so bili pridobljeni iz razmerij med masami in povprečji izmerjenih volumnov največjih porcij samostojnih živil enakih mas, ki so bili na voljo v setu podatkov.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

Eden izmed ključnih ciljev raziskave je ovrednotenje metode z analizo napak. Osredotočili smo se na izvore napak, ki so unikatni za preiskovano metodo, torej od meritve do preračuna v maso. Za ovrednotenje skupne napake metode smo zaradi kompatibilnosti z ostalimi študijami uporabili izračun koeficienta variacije, CV . Da bi

pridobili enotne rezultate, ki so lažje predstavljeni in lažje primerljivi z ostalimi študijami, smo izračunali povprečja. Ko smo računali povprečje $\overline{CV}$ smo poleg rezultatov izračunali tudi negotovost, ki smo jo izrazili s SD . Pomembno je omeniti, da so standardne deviacije povprečnih vrednosti visoke, saj predstavljajo predvsem variabilnost med napakami različnih velikosti porcij in/ali različnih živil, ki so vključene v povprečje, in ne negotovosti naših ugotovitev.

3.1 NAPAKA PRI IZRAČUNU MASE ŽIVILA IZ OPTIČNEGA ZAJEMA PODATKOV

Preglednica 1 prikazuje rezultate povprečij CV za posamezna živila, skupno povprečje in povprečji podskupin, v kateri so bila živila empirično razvrščena pred izvedbo eksperimentov.

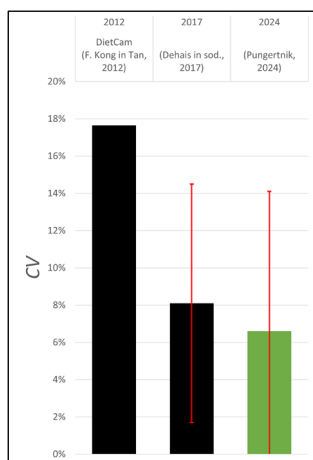
Preglednica 1: Povprečja CV za posamezna živila ($\overline{CV}_{\text{živilo}}$), povprečji za homogena živila ($\overline{CV}_{\text{homogena}}$) in heterogena živila ($\overline{CV}_{\text{heterogena}}$) ter skupno povprečje ($\overline{CV}$).

Živilo	$\overline{CV}_{\text{živilo}}$	$\overline{CV}_{\text{homogena}}$	$\overline{CV}$	
Goveji zrezek	(6,8 ± 1,9) %	(4,7 ± 4,6) %	(6,6 ± 7,5) %	
Orehi	(5,8 ± 3,0) %			
Pire	(2,4 ± 0,3) %			
Riž	(3,9 ± 2,8) %			
Živilo	$\overline{CV}_{\text{živilo}}$	$\overline{CV}_{\text{heterogena}}$		
Solata	(5,6 ± 1,7) %	(8,5 ± 5,9) %		
Brokoli	(9,2 ± N/A*) %			
Piščancje perutničke	(4,2 ± 2,4) %			
Jabolko	(15.0 ± 5.2) %			

Iz zgornjih povprečij je razvidna napaka posamezne meritve na podlagi 4 homogenih živil in 4 nehomogenih živil ($6,6 \%$). Napaka meritve nehomogenih živil je nekoliko slabša od homogenih, kot je pričakovano, vendar statistično značilne razlike v napaki med skupinama na podlagi vzorca nismo dokazali ($p = 0,097$).

3.2 PRIMERJAVA REZULTATOV Z LITERATURO

Izmerjeno napako naše metode, izraženo s CV , smo primerjali s predhodnimi objavami (Kong in Tan, 2012, Dehais in sod., 2017), ki poročajo tudi napake in uporabljajo zadostno podoben princip, t.j. meritev volumna z optičnim sistemom (slika 2). Razlikujejo se predvsem v strojni opremi, računalniški analizi ter dizajnu sistema. Tudi v rezultatih ostalih študij opazimo velike SD , saj gre za prikaz variabilnosti napake med različnimi velikosti porcije in/ali živil. Naša metoda je imela manjšo napako CV , v primerjavi s študijama katerih metodologije imajo primerljiv potencial za avtomatizacijo z našo metodo.



Slika 2: Primerjava napake z literaturo. Naša metoda (zeleni); metode iz literature s primerljivim potencialom za avtomatizacijo (črna). Kjer študije to poročajo, prikazuje graf tudi variabilnost napake med velikostmi porcij in/ali živil izraženo s SD (rdeča).

4 ZAKLJUČEK

Danes v zdravstveni praksi prevladujejo klasične metode, kot so prehranski dnevnik, 24-urni priklic in FFQ. Prehransko presejanje se na podlagi teh metod izvaja šele ob pojavu suma na prehransko ogroženost. Moderne avtomatizirane metode zaradi učinkovitega up-scalinga v primerjavi s klasičnimi metodami nosijo potencial cenovno dostopnega prehranskega spremljanja vseh pacientov v realnem času od trenutka hospitalizacije. Zgodnejša ugotovitev prehranskega neravnovesja je ključnega pomena za klinični izid hospitaliziranih pacientov.

Z našo raziskavo smo želeli izdelati in preizkusiti prototip avtomatizirane cenovno učinkovite optično volumetrične analize na osnovi 3D-profilometrije in določiti merilno napako sistema. S prototipom, katerega ocenjena vrednost je 1500 evrov, smo izvedli optično volumetrično analizo 8-ih izbranih živil. Iz zajetega 3D-barvnega posnetka živila smo izračunali posamezne volumne in mase ter na podlagi pridobljenih podatkov določili skupno napako, $CV = 6,6\%$. Dobljena napaka je manjša od napak, ki so jih zabeležili avtorji v podobnih raziskavah.

5 VIRI

- Zhu F., Mariappan A., Boushey C. J., Kerr D., Lutes K. D., Ebert D. S., Delp E. J. 2008. Technology-assisted dietary assessment. V: Computational Imaging VI. Technology-assisted dietary assessment.
- Rogelj L. 2022. Zaznavanje artritisa malih sklepov s popravljenimi spektralnimi slikami. Doktorsko delo. UL, FMF
- Kong F., Tan J. 2012. DietCam: Automatic dietary assessment with mobile camera phones. *Pervasive and Mobile Computing*, 8, 1: 147–163
- Dehais J., Anthimopoulos M., Shevchik S., Mougiakakou S. 2017. Two-view 3D reconstruction for food volume estimation. *IEEE Transactions on Multimedia*, 19, 5: 1090–1099

POLIAMINI, BIOGENI AMINI IN PROSTE FENOLNE SPOJINE V TEMPEHU IN NATTU - VPLIV FERMENTACIJE IN SHRANJEVANJA

Katarina Barbara ROBIČ¹, Varineja DRAŠLER² in Blaž CIGIČ³

Povzetek: Ugotavljali smo vpliv fermentacije in shranjevanja (4 °C, 19 dni) različnih vrst tempeha in natta na vsebnost biogenih aminov (BA) in poliaminov, gama-aminobutanojske kisline (GABA) ter prostih fenolnih spojin. Z metodo Folin-Ciocalteu smo ugotovili, da fermentacija vseh analiziranih vzorcev tempeha in natta rezultira v povečani vsebnosti prostih fenolnih spojin. Kromatografsko smo, po predhodni derivatizaciji z dansil kloridom, določali vsebnost spermina, spermidina, GABA, putrescina, kadaverina in tiramina. Ugotovili smo, da je bila vsebnost prehransko zaželene GABA v nefermentiranih vzorcih relativno nizka. Po fermentaciji se je vsebnost GABA povečala pri vseh analiziranih vzorcih tempeha (največ 1300 mg/kg), medtem ko shranjevanje ni imelo enoznačnega vpliva na tvorbo/razgradnjo GABA. V vseh analiziranih vzorcih tempeha smo določili večjo vsebnost spermidina (največ 68 mg/kg) kot spermina (največ 27 mg/kg). V splošnem fermentacija in shranjevanje nista rezultirala v povečani vsebnosti obeh prehransko zaželenih poliaminov, z izjemo tempeha iz ajde in sončničnih semen. Prevladujoči BA v vzorcih tempeha so bili putrescin, kadaverin in tiramin. Putrescin se je akumuliral v vseh analiziranih vzorcih in predstavlja kvantitativno najpomembnejši BA v večini vzorcev tempeha (največ 200 mg/kg). Fermentacija je imela majhen vpliv na vsebnost kadaverina, medtem ko smo po shranjevanju v nekaterih vzorcih določili tudi do stokratno povečanje vsebnosti (največ 500 mg/kg). Pri vzorcih natta večjih razlik v vsebnosti GABA, poliaminov ter BA, tako po fermentaciji kot po shranjevanju, nismo ugotovili.

Ključne besede: tempeh, natto, poliamini, biogeni amini, gama-aminobutanojska kislina

POLYAMINES, BIOGENIC AMINES AND FREE PHENOLIC COMPOUNDS IN TEMPEH AND NATTO - INFLUENCE OF FERMENTATION AND STORAGE

Abstract: The influence of fermentation and storage (4 °C, 19 days) of different types of tempeh and natto on the content of biogenic amines (BA) and polyamines, gamma-aminobutanoic acid (GABA) and free phenolic compounds was determined. Using the Folin-Ciocalteu method, we found that fermentation of all analyzed tempeh and natto samples resulted in an increased content of free phenolic compounds. The content of spermine, spermidine, GABA, putrescine, cadaverine and tyramine was determined chromatographically, after derivatization with dansyl chloride. We found that the content of nutritionally desirable GABA in unfermented samples was relatively low. After fermentation, the content of GABA increased in all analyzed tempeh samples (maximum 1300 mg/kg), while storage did not have a clear effect on the formation/degradation of GABA. In all analyzed tempeh samples, we determined a higher content of spermidine (maximum 68 mg/kg) than spermine (maximum 27 mg/kg). In general, fermentation and storage did not result in an increased content of both nutritionally desirable polyamines, except for buckwheat and sunflower seeds tempeh. The dominant BAs in tempeh samples were putrescine, cadaverine and tyramine. Putrescine accumulated in all analyzed samples and was predominant BA in most tempeh samples (maximum 200 mg/kg). Fermentation had little effect on cadaverine content, while after storage in some samples, we observed a hundred-fold increase in content (maximum 500 mg/kg). In natto samples, no significant differences in GABA, polyamines, and BA content were determined, both after fermentation and after storage.

Keywords: tempeh, natto, polyamines, biogenic amines, gamma-aminobutanoic acid

¹ mag. inž. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: katarinab.robic@gmail.com

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

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

1 UVOD

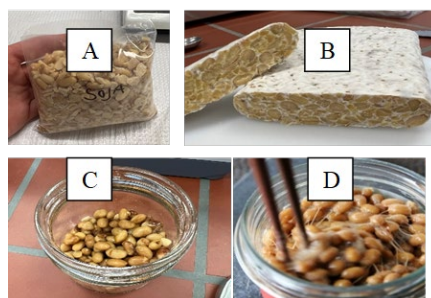
Pomembno mesto v azijski kulinariki zavzemajo fermentirani izdelki rastlinskega izvora kot sta tempeh in natto. V osnovi je tempeh pridobljen s fermentacijo sojinih zrn, s pomočjo dodatka izbrane starter kulture. Najpogostejše se doda spore plesni rodu *Rhizopus spp.* Soja je tradicionalen in primarni substrat za izdelavo tempeha, vendar se vse pogostejše posega tudi po drugih stročnicah in žitaricah kot sta čičerika in fižol (Erkan in sod., 2020). Standardni postopek izdelave vključuje pranje, namakanje, luščenje, kuhanje v vodi, inokulacijo s starter kulturo, pakiranje in inkubacijo s fermentacijo (Ahnann-Winarno in sod., 2021). S fermentacijo se spremenijo senzorične in funkcionalne lastnosti, ki so posledica encimske razgradnje makrohranil in tvorbe sekundarnih metabolitov (Jayachandran in Xu, 2019). Pri pripravi natta se za razliko od tempeha uporabi bakterije vrste *Bacillus subtilis* var. *natto* (Amemiya in sod., 2024), ki sintetizirajo poliglutaminsko kislino in polifruktane, kar poveča viskoznost in daje produktu značilno teksturo.

Aminokisline, ki nastajajo kot rezultat hidrolize so substrati za sintezo biogenih aminov (BA), zato je pomembno spremljanje količin BA v nattu (Kim in sod., 2012; Mah in sod., 2019), kakor tudi v tempehu, kjer se lahko tvorijo velike količine prehransko nezaželenih BA (Saha Turna in sod., 2024; Toro-Funes in sod., 2015). Iz aminokisline glutamat in BA putrescina pa se lahko tvori tudi prehransko zaželena gama-aminobutanojska kislina (GABA) tako pri pripravi tempeha kot natta (Xu in sod., 2017; Polandowska in sod., 2020; Cai in sod., 2014). Tako stročnice kot tempeh in natto so dober prehranski vir spermina (SPM) in spermidina (SPD) (Toro-Funes in sod., 2015). Učinek fermentacije pa je pogostokrat kompleksen, saj lahko poteka sinteza (Michael, 2016) kot tudi razgradnja poliaminov (Valdés-Santiago in Ruiz-Herrera, 2014; Kobayashi in sod., 2017). Vsebnost skupnih fenolnih spojin se v tempehu in nattu s fermentacijo lahko poveča, kar pripisujejo predvsem aktivnosti glukozidaz, ki sprostijo vezane polifenole (Kuligowski in sod., 2017; Oboh in sod., 2009), v določenih primerih pa se vsebnost lahko tudi zmanjša, zaradi luženja v okoliško raztopino (Haron in Raob, 2014).

2 MATERIAL IN METODE

Tempeh in natto so pripravili v podjetju Kis in Kvas. Analizirali smo vzorce tempeh (TS) in natta, ki sta bila pripravljena samo iz soje, kakor tudi vzorce tempeha pripravljena iz mešanice dveh sestavin (50 : 50) iz ajde in sončničnih semen (TAS), mešanice rdeče leče in fižola adzuki (TLF) ter mešanice črnega fižola in grahovitih polovic (TFG). Fermentacija natta je potekala 20 ur pri 40 °C. Fermentacija tempeha je potekala 36 ur. Središčna temperatura tempeha, merjena z vbodnim termometrom med fermentacijo je bila med 30 in 35 °C. Predpisan rok uporabe za tempeh je 7 dni v hladilniku in za natto 14 dni v hladilniku.

Vzorčili smo tako surovino tik pred fermentacijo (kultura je bila že dodana), kakor tudi natto in tempeh takoj po fermentaciji in po 19 dneh v hladilniku pri 4 °C. Polifenole smo ekstrahirali s 50 % etanolom (Haron in Raob, 2014) in jih določali spektrofotometrično (Abramovič in sod., 2018). Poliamine, BA in GABA smo ekstrahirali z 0,4 mol/L HCl po homogenizaciji z Ultrathurax-om, jih derivatizirali z danzil kloridom in nato kromatografsko določili (Polak in sod., 2021).



Slika 1: Surovina za pripravo sojinega tempeha (A), sojin tempeh po fermentaciji (B), surovina za pripravo natta (C) in natto po fermentaciji (D).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 VPLIV FERMENTACIJE NA VSEBNOST POLIFENOLOV V NATTU IN TEMPEHU

Iz rezultatov prikazanih v Preglednici 1 je razvidno, da se je vsebnost prostih fenolnih spojin po fermentaciji v vseh vzorcih tempeha povečala. Ugotovitve se tako skladajo s predhodnimi študijami (Kuligowski in sod., 2017; Oboh in sod., 2009). Največ prostih fenolnih spojin pred začetkom fermentacije smo določili v TAS in najmanj v TFG, kar je povezano z vrsto uporabljene stročnice (Xu in sod., 2007).

Preglednica 1: Vpliv fermentacije na vsebnost prostih fenolnih spojin v vzorcih tempeha pripravljenih iz ajde in sončničnih semen (TAS), iz črnega fižola in graha (TFG), iz rdeče leče in adzuki fižola (TLF), iz soje (TS) in v nattu (N) pred začetkom fermentacije in po koncu fermentacije izraženih v mmol (TE)/kg.

	TAS	TFG	TLF	TS	N
Pred fermentacijo	63 ± 3	8,0 ± 0,1	9,9 ± 0,1	24 ± 2	22 ± 2
Po fermentaciji	89 ± 4	22,9 ± 0,2	22 ± 2	28 ± 2	23,8 ± 0,1

Največ prostih fenolnih spojin po koncu fermentacije smo določili v TAS, najmanj v TLF (Preglednica 1). Omeniti je potrebno, da smo kljub najmanjši vsebnosti v vzorcih tempeha TFG in TLF po koncu fermentacije, ravno za ta dva primera določili največjo relativno povečanje vsebnosti, saj se je le ta več kot podvojila, kar je najverjetneje posledica aktivnosti encimov, ki cepijo glikozidne, estrske ali etrske vezi s katerimi so fenolne spojine vezane na različne slabo topne komponente kot je npr. celična stena (Kuligowski in sod., 2017).

3.2 VPLIV FERMENTACIJE IN SHRANJEVANJA NA VSEBNOST SPERMINA, SPERMIDINA IN GAMA-AMINOBUTANOJSKE KISLINE V TEMPEHU IN NATTU

V vseh vzorcih tempeha smo ugotovili povečanje vsebnosti GABA v primerjavi z izhodno surovino, medtem ko pri nattu nismo ugotovili sprememb (Preglednica 2). Primerjava vzorcev tempeha po fermentaciji razkrije, da se je največ GABA tvorilo pri TLF. Pri TAS pa smo tudi zaradi najnižje začetne vsebnosti ugotovili največjo porast GABA tekom fermentacije, saj se je vsebnost povečala 40-krat. Pri TFG, ki je pred fermentacijo vseboval največ GABA, se je relativna vsebnost povečala najmanj (3,7-krat). Predvidevamo lahko, da je med posameznimi vzorci prišlo do razlik v količini proste glutaminske kisline, ki je substrat za dekarboksilazo (Luo in sod., 2021), ki katalizira sintezo GABA.

Iz primerjave rezultatov za SPM in SPD, izhaja da so v enakih vzorcih vsebnosti SPD višje od SPM. To je pričakovano, saj živila rastlinskega izvora v večini primerov vsebujejo več SPD kot SPM (Kalač in Krausová, 2005). Fermentacija ni imela enoznačnega vpliva na vsebnost SPM in SPD, saj smo v odvisnosti od izhodne surovine ugotovili tako povečanje, zmanjšanje kot tudi nespremenjeno vrednost. V določenih primerih so razvidne tudi velike standardne deviacije kar kaže na kompleksen vpliv fermentacije, saj je končna vsebnost posledica sinteze (Michael, 2016) kot tudi razgradnje poliaminov (Valdés-Santiago in Ruiz-Herrera, 2014; Kobayashi in sod., 2017), ki je pri posameznih vzorcih lahko potekala različno. Pri nattu se vsebnost SPM med fermentacijo ni spremenila.

Skladiščenje v hladilniku čez rok uporabe je imelo v splošnem negativen vpliv na vsebnost GABA, SPM in SPD, medtem ko pri nattu sprememb nismo ugotovili. Predvsem za SPM velja, da je znižanje vsebnosti tako v primerjavi s surovino kot s svežim tempehom najbolj izrazito.

Preglednica 2: Vpliv fermentacije in shranjevanja na vsebnost spermina (SPM), spermidina (SPD) in gama-aminobutanojske kisline (GABA) v vzorcih tempeha pripravljenih iz ajde in sončničnih semen (TAS), iz črnega fižola in graha (TFG), iz rdeče leče in adzuki fižola (TLF), iz soje (TS) in v nattu (N) pred začetkom fermentacije, po koncu fermentacije ter po 19 dneh shranjevanja pri 4 °C izraženo v mg/kg.

	TAS	TFG	TLF	TS	N
SPM					
Pred fermentacijo	17 ± 1	27 ± 1	20 ± 1	13 ± 1	18 ± 2
Po fermentaciji	20 ± 2	18 ± 4	7 ± 3	6 ± 5	16 ± 1
Po 19 dneh pri 4 °C	6 ± 10	4 ± 9	2 ± 3	5 ± 19	14 ± 3
SPD					
Pred fermentacijo	18 ± 1	31 ± 5	33 ± 2	68 ± 2	63 ± 2
Po fermentaciji	43 ± 11	31 ± 9	39 ± 44	28 ± 5	61 ± 1
Po 19 dneh pri 4 °C	46 ± 21	11 ± 6	24 ± 41	24 ± 19	56 ± 6
GABA					
Pred fermentacijo	20 ± 16	250 ± 20	200 ± 20	180 ± 20	130 ± 3
Po fermentaciji	750 ± 80	920 ± 260	1300 ± 200	830 ± 190	125 ± 2
Po 19 dneh pri 4 °C	49 ± 17	740 ± 210	600 ± 600	600 ± 400	116 ± 8

3.3 VPLIV FERMENTACIJE IN SHRANJEVANJA NA VSEBNOST PUTRESCINA, KADAVERINA IN TIRAMINA V NATTU IN TEMPEHU

Izhodne surovine za pripravo tempeha in natta so vsebovale le malo BA. V vseh nefermentiranih vzorcih smo določili PUT, CAD smo določili le v TS, medtem ko TYR nismo določili v nobenem vzorcu. Fermentacija je rezultirala v povečani vsebnosti PUT v vseh vzorcih vendar vsebnost ni presegla 120 mg/kg. Še manjše vsebnosti smo določili za CAD, ki je bil v vzorcu TAS celo pod mejo detekcije. V vseh vzorcih tempeha smo določili povečanje vsebnosti TYR, vendar ne več kot 25 mg/kg. Fermentacija ni vplivala na vsebnost BA v nattu.

Preglednica 3: Vpliv fermentacije in shranjevanja na vsebnost putrescina (PUT), kadaverina (CAD) in tiramina (TYR) v vzorcih tempeha pripravljenih iz ajde in sončničnih semen (TAS), iz črnega fižola in graha (TFG), iz rdeče leče in adzuki fižola (TLF), iz soje (TS) in v nattu (N) pred začetkom fermentacije, po koncu fermentacije ter po 19 dneh shranjevanja pri 4 °C izraženo v mg/kg.

	TAS	TFG	TLF	TS	N
PUT					
Pred fermentacijo	2 ± 1	8 ± 1	7 ± 1	12 ± 1	11 ± 1
Po fermentaciji	85 ± 4	120 ± 30	120 ± 30	63 ± 6	10,7 ± 0,1
Po 19 dneh pri 4 °C	30 ± 36	100 ± 30	120 ± 30	40 ± 15	10,4 ± 0,3
CAD					
Pred fermentacijo	/	/	/	5 ± 1	7,5 ± 0,1
Po fermentaciji	/	4 ± 1	4 ± 2	4 ± 1	6,4 ± 0,1
Po 19 dneh pri 4 °C	4 ± 3	14 ± 9	500 ± 300	220 ± 260	6,4 ± 0,3
TYR					
Pred fermentacijo	/	/	/	/	/
Po fermentaciji	14 ± 1	17 ± 14	25 ± 25	15 ± 1	/
Po 19 dneh pri 4 °C	16 ± 3	16 ± 2	12 ± 2	26 ± 6	/

Shranjevanje v hladilniku je v določenih vzorcih rezultiralo v zelo veliki akumulaciji CAD, kjer smo v TLF določili celo 500 mg/kg. Tako velike vsebnosti v prehranskem smislu niso zaželene in kažejo na aktivnost psihotropnih mikroorganizmov (Moon in sod., 2010; Wei in sod., 2019), ki se razmnožujejo in rastejo v hlajenih živilih, kar negativno vpliva na kakovost hrane, kljub temu, da je optimalna temperatura za njihovo rast višja.

4 ZAKLJUČEK

Fermentacija je rezultirala v povečani vsebnosti prostih fenolnih spojin in GABA v vseh vzorcih tempeha. Vpliv fermentacije na vsebnost SPM in SPD ni enoznačen in je odvisen od izhodne surovine. Izmed BA sta se v vzorcih tempeha akumulirala PUT in TYR, vendar v relativno majhnih količinah. Shranjevanje v hladilniku čez rok uporabnosti je rezultiralo predvsem v kopičenju CAD v nekaterih vzorcih. V splošnem lahko ugotovimo velike

standardne deviacije med posameznimi vzorci kar kaže na veliko variabilnost fermentacije. Tako fermentacija kot shranjevanje sta imela le majhen vpliv na vsebnost poliaminov, BA in GABA v sojinem nattu.

5 VIRI

- Abramovič H., Grobin B., Poklar Ulrih N., Cigić B. 2018. Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin–Ciocalteu. *Journal of Chemistry*, 2018: e4608405, <https://doi.org/10.1155/2018/4608405>
- Ahnan-Winarno A.D., Cordeiro L., Winarno F.G., Gibbons J., Xiao H. 2021 Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2):1717-1767, doi: 10.1111/1541-4337.12710.
- Amemiya T., Ohkusu K., Murayama M., Yamamoto T., Itoh N. 2024. A rare case of *Bacillus Subtilis* Variant Natto-induced persistent bacteremia with liver and splenic abscesses in an immunocompetent patient, 35: e01925, <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2024.e01925>
- Cai S., Gao F., Zhang X., Wang O., Wu W., Zhu S., Zhang D., Zhou F., Ji B.. 2014. Evaluation of γ -aminobutyric acid, phytate and antioxidant activity of tempeh-like fermented oats (*Avena sativa* L.) prepared with different filamentous fungi. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 10: 2544-2551, <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0748-2>
- Erkan S.B., Gürlür H. N., Bilgin D. G., Germec M., Turhan I. 2020. Production and characterization of tempehs from different sources of legume by *Rhizopus Oligosporus*. *Lwt - Journal of Food Science and Technology*, 119: 108880, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108880>
- Haron H., Raob N. 2014. Changes in macronutrient, total phenolic and anti-nutrient contents during preparation of tempeh. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 4, 2: 1000265, <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000265>
- Jayachandran M., Xu B. 2019. An Insight into the health benefits of fermented soy products. *Food Chemistry*, 271: 362-371, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.158>
- Kalač P., Krausová P. 2005. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90: 219-230, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.044>
- Kim B., Young Byun B., Mah J.-H. 2012. Biogenic amine formation and bacterial contribution in natto products. *Food Chemistry*, 135, 3: 2005-2011, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.091>
- Kobayashi K., Kubo Y., Horii Y., Nishiwaki T., Kamiyama S., Sone H., Watanabe S. 2017. Bacterial degradation of spermine and expression of spermidine/spermine acetyltransferase in *Bacillus Subtilis* (natto) under liquid cultivation. *Journal of General and Applied Microbiology*, 63, 6: 373-376, <https://doi.org/10.2323/jgam.2017.02.007>
- Kuligowski M., Pawłowska K., Jasińska-Kuligowska I., Nowak J. 2017. Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation. *CYTA - Journal of Food*, 15, 1: 27-33, <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197316>
- Luo H., Liu Z., Xie F., Bilal M., Liu L., Yang R., Wang Z. 2021. Microbial production of gamma-aminobutyric acid: applications, state-of-the-art achievements, and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41, 4: 491-512, <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1869688>
- Mah J.-H., Kyoung Park Y., Hun Jin Y., Lee J.-H., Hwang H.-J. 2019. Bacterial production and control of biogenic amines in asian fermented soybean foods. *Foods*, 8, 85, <https://doi.org/10.3390/foods8020085>
- Michael A. J. 2016. Polyamines in eukaryotes, bacteria, and archaea. *Journal of Biological Chemistry*, 291, 29: 14896-14903, <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.734780>
- Moon J. S., Kee Cho S., Young Choi H., Eun Kim J., Kim S.-Y., Cho K.-J., Soo Han N. 2010. Isolation and characterization of biogenic amine-producing bacteria in fermented soybean pastes. *Journal of Microbiology*, 48, 2: 257-261, <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0040-y>
- Oboh G., Ademiluyi A. O., Akindahunsi A. A. 2009. Changes in polyphenols distribution and antioxidant activity during fermentation of some underutilized legumes. *Food Science and Technology International*, 15, 1: 41-46, <https://doi.org/10.1177/1082013208101022>
- Polak T., Mejaš R., Jamnik P., Kralj Cigić I., Poklar Ulrih N., Cigić B. 2021. Accumulation and transformation of biogenic amines and Gamma-Aminobutyric acid (GABA) in chickpea sourdough. *Foods*, 10,11: 2840, <https://doi.org/10.3390/foods10112840>
- Polanowska K., Grygier A., Kuligowski M., Rudzińska M., Nowak J. 2020. Effect of tempe fermentation by three different strains of *Rhizopus Oligosporus* on nutritional characteristics of faba beans. *Lwt - Food Science and Technology*, 122: 109024, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109024>

- Saha Turna N., Chung R., McIntyre L. 2024. A review of biogenic amines in fermented foods: Occurrence and health effects. *Heliyon*, 10, 2: e24501, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24501>
- Toro-Funes N., Bosch-Fuste J., Latorre-Moratalla M. L., Veciana-Nogués M. T., Vidal-Carou M. C. 2015. Biologically active amines in fermented and non-fermented commercial soybean products from the spanish market. *Food Chemistry*, 173: 1119-1124, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.118>
- Valdés-Santiago L., Ruiz-Herrera J. 2014. Stress and polyamine metabolism in fungi. *Frontiers in Chemistry*, 1, 42: 1-10, <https://doi.org/10.3389/fchem.2013.00042>
- Wei Q., Wang X., Sun D.-W., Pu H. 2019. Rapid detection and control of psychrotrophic microorganisms in cold storage foods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 86: 453-464, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.009>
- Xu B. J., Yuan S. H., Chang S. K. C. 2007. Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *Journal of Food Science*, 72, 2, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x>
- Xu L., Cai W. X., Xu B. J. 2017. A systematic assesment on vitamins (B2, B12) and GABA profiles in fermented soy products marketed in China. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41: e13126, <https://doi.org/10.1111/jfpp.13126>

RAST PLESNI VRSTE *ASPERGILLUS FLAVUS* IN TVORBA AFLATOKSINA B1 V ZNAČILNIH RAZMERAH ZA IZDELAVO SUHIH SALAM

Zala ŠTURM¹, Iva ZAHIJA JAZBEC², Lea DEMŠAR³, Tomaž POLAK⁴ in Barbara JERŠEK⁵

Povzetek: Plesni vrste *Aspergillus flavus* tvorijo sekundarne metabolite, imenovane aflatoksini. Aflatoksini vplivajo na zdravje ljudi in živali ter imajo velik gospodarski vpliv. Plesni vrste *A. flavus* imajo širok temperaturni spekter rasti, rastejo lahko tudi pri nižjih pH in a_w , zato lahko okužijo mnoga živila vključno s suhimi salamami. Cilj študije je bil oceniti vpliv razmer izdelave suhih salam na rast plesni in tvorbo aflatoksina B1 (AFB1). Spremljali smo vpliv časa (7, 14, 21 dni), temperature (10, 15, 25 °C), a_w (0,98, 0,99, 0,95), pH (6,7, 6,3, 5,4) in sestave gojišča. Ugotovili smo, da ima čas na rast plesni in tvorbo AFB1 bistven vpliv, saj sta se oba parametra s časom linearno povečevala. Optimalna temperatura za rast plesni in tvorbo AFB1 je bila 25 °C. Optimalna a_w za rast je znašala 0,98, za tvorbo AFB1 pa 0,95, kjer je bila po 21 dneh inkubacije pri 25 °C na gojišču YES9554 (kvasni ekstrakt z dodatki, a_w 0,95, pH 5,4) maksimalna izmerjena koncentracija AFB1 (116,84 µg/g), sledilo je gojišče YES9563 (a_w 0,95, pH 6,3) s 110,87 µg/g AFB1. pH je imel med vsemi preiskovanimi parametri najmanjši vpliv. Ugotovili smo tudi, da je sestava gojišča bistveno vplivala na rast plesni, še bolj pa na tvorbo AFB1, saj smo določili tudi do 95 % nižje koncentracije AFB1 v gojiščih CMGY (kuhano mesno gojišče z glukozo in kvasnim ekstraktom) v primerjavi z gojišči YES. Rezultati študije kažejo na obsežnost in prepletenost vplivov okoljskih razmer na rast plesni vrste *A. flavus* in tvorbo AFB1 v razmerah, značilnih za proizvodnjo suhih salam, ter nakazujejo parametre (temperatura in a_w), s katerimi lahko zmanjšamo potencial tvorbe AFB1 v teh izdelkih.

Ključne besede: *Aspergillus flavus*, aflatoksin B1, suhe salame, rast plesni, temperatura, vodna aktivnost, pH

GROWTH OF *ASPERGILLUS FLAVUS* AND AFLATOXIN B1 FORMATION IN CONDITIONS TYPICAL FOR DRY SALAMI PRODUCTION

Abstract: *Aspergillus flavus* produce secondary metabolites known as aflatoxins. Aflatoxins affect human and animal health and have a significant economic impact. *A. flavus* can grow over a wide temperature range and are capable of growing at lower pH and a_w values, which enables them to contaminate a variety of food products, including dry fermented sausages. The aim of this study was to evaluate the impact of dry sausage production conditions on the growth of *A. flavus* and the production of aflatoxin B1 (AFB1). We monitored the effects of incubation time (7, 14, and 21 days), temperature (10 °C, 15 °C, and 25 °C), a_w (0.98, 0.99, and 0.95), pH (6.7, 6.3, and 5.4), and growth medium composition. Mold growth was assessed by measuring colony diameter, while AFB1 production was determined using the UPLC–MS/MS chromatographic method. Our results showed that incubation time had a significant effect on mould growth and AFB1 production, as both parameters increased linearly over time. The optimal temperature for mould growth and AFB1 production was 25 °C. The optimal a_w for mould growth was 0.98, while for AFB1 production it was 0.95. The highest concentration of AFB1 (116.84 µg/g) was measured after 21 days of incubation at 25 °C on the YES9554 medium (yeast extract supplemented medium with a_w 0.95 and pH 5.4), followed by the YES9563 medium (a_w 0.95 and pH 6.3), with 110.87 µg/g of AFB1. Among all tested parameters, pH had the least influence. We also found that the composition of the growth medium had a significant effect on mould growth and an even greater effect on AFB1 production, with AFB1 concentrations up to 95% lower on CMGY media (cooked meat medium with glucose and yeast extract) compared to YES media. The results of the study highlight the complexity and interdependence of environmental factors influencing the growth of *A. flavus* and the production of AFB1 under conditions typical of dry sausage production. Furthermore, they indicate parameters (temperature and a_w) that can be adjusted to reduce the potential for AFB1 formation in these products.

Keywords: *Aspergillus flavus*, aflatoxin B1, dry salami, mould growth, temperature, water activity, pH

¹ mag. ing. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: zala.sturm@gmail.com

² mag. ing. živil., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: iva.zahija@bf.uni-lj.si

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

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

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

1 UVOD

Mikotoksini so sekundarni metaboliti plesni, ki imajo močne farmakološke in toksične učinke. (Pleadin in sod., 2021). Trije glavni rodovi plesni, ki tvorijo mikotoksine, so *Aspergillus*, *Fusarium* in *Penicillium* (Mahato in sod., 2019). Trenutno obstaja več kot 450 različnih mikotoksinov, ki so povezni z različnimi toksikološkimi odzivi ogrožanja zdravja in segajo od blagega gastroenteritisa do smrtonosnih rakotvornih bolezni. Aflatoksini so prepoznani kot najbolj toksični mikotoksini (Benkerroum, 2020). Tvorijo jih plesni rodu *Aspergillus*, in sicer predvsem plesni vrst *Aspergillus flavus* in *A. parasiticus* (Mahato in sod., 2019). Najhujši odzivi izpostavljenosti aflatoksinom so genotoksičnost, mutagenost, imunotoksičnost in kancerogenost (Benkerroum, 2020). Živila, ki so glede aflatoksinov prepoznana kot najbolj tvegana, so žita, riž, fižol, kava, vino, sadje, oreški in začimbe, jajca ter mesni izdelki (Pleadin in sod., 2021). Suhomesni izdelki so tradicionalna živila, ki se jih pogosto uživa, zato je njihova varnost in kakovost še posebno pomembna. Ti izdelki imajo običajno nizko aktivnost vode, nevtralen do nizek pH ter visoko vsebnost hranil in soli (Montanha in sod., 2018).

Toksigene glive, ki tvorijo mikotoksine, kot je aflatoksin B1 (AFB1), dobro rastejo na različnih živilih. AFB1 je rakotvoren in mutagen za ljudi in živali. Glede na izpostavljenost razlikujemo akutno toksičnost, ki je posledica kratkotrajne izpostavljenosti visokim količinam AFB1, in kronično toksičnost, ki je posledica dolgotrajne izpostavljenosti nizkim ali zmernim količinam AFB1. Razmere, ki spodbujajo nastajanje mikotoksinov, so genetsko nadzorovane in odvisne od vrste plesni, ter okoljskih dejavnikov, kot so vrsta substrata, temperatura, pH, relativna vlažnost in čas skladiščenja (Al-Rahadi in sod., 2022).

2 TOKSIČNOST AFLATOKSINA B1

Bolezen, ki jo povzročajo mikotoksini, se imenuje mikotoksikoza (El-Sayed in sod., 2021). AFB1 je najbolj toksičen od mikotoksinov in je dobro opisan kot povzročitelj razvoja hepatocelularnega karcinoma (HCC) pri ljudeh in živalih (Rushing in Selim, 2019). Bolezen, ki je povezana z aflatoksini, se pogovorno imenuje aflatoksikoza (El-Sayed in sod., 2022). Posledice zastrupitve z aflatoksini so različne, predvsem zaradi velikosti odmerka in pogostosti izpostavitve (kratkotrajna ali kronična). Posledice zastrupitve so resne in so lahko tudi smrtne. Najpogostejši simptomi so bolečine v trebuhu, bruhanje, krvavitve, poškodbe jeter, motnje rasti in razvoja, imunska pomanjkljivost, pljučni edem in edem okončin, oslabitev krvnih žil in koma (Kepiška-Pacelik in Biel, 2021). Jetra so glavni ciljni organ delovanja aflatoksinov, pri čemer izpostavljenost AFB1 pri različnih živalskih vrstah povzroča poškodbe tega organa. AFB1 velja za najbolj toksičnega med aflatoksini – njegova strupenost je kar 68-krat večja od strupenosti arzena in desetkrat večja od strupenosti kalijevega cianida (Liao in sod., 2020). AFB1 se presnavlja v jetrih z encimskim sistemom P450 v končni rakotvorni aflatoksin B1 8,9 epoksid (AFBO), ki ima dve izomeri: endo-8,9-epoksid in ekso-8,9-epoksid (Rushing in Selim, 2019). Aflatoksin je elektrofilne narave, kar mu omogoča spontano reagiranje z biološkimi amini v beljakovinah in nukleinskih kislinah. V reakciji z DNA se aflatoksin kovalentno veže na položaj N7 na gvaninu in tvori adukt AFB1-N7-gvanin. Izkazalo se je, da ima ekso izomera tega toksina in njegovih intermediatov, veliko večjo afiniteto za ostanke gvanina kot endo izomera, zato velja, da je AFB1-exo-8,9-ep-oksidi glavni rakotvorni metabolit. Prosti AFB1-N7-gvanin se lahko izloča z urinom, zato se pogosto uporablja kot biooznačevalec izpostavljenosti AFB1 (Adam in sod., 2017).

AFB1 je eden najmočnejših hepatokarcinogenov, zato izrazito prispeva k svetovnemu pojavu HCC. Ker je izpostavljenost ljudi AFB1 pogosta, se zaradi zaužitja tega toksina pojavljajo kronične poškodbe jeter, ki v veliki meri ostajajo nenadzorovane. Zgodnje študije v Ugandi in Keniji so pokazale, da so regije z visoko incidenco raka na jetrih, vsebovale tudi visoke stopnje kontaminacije živil z aflatoksini, kar je ustrezalo hepatokancerogenim lastnostim AFB1 v laboratorijskih poskusih (Rushing in Selim, 2019). Uživanje aflatoksinov v hrani velja za glavni dejavnik tveganja za razvoj primarnega hepatocelularnega karcinoma (El-Sayed in sod., 2022).

3 RAST PLESNI IN TVORBA MIKOTOKSINOV

Za suhomesne izdelke je značilna nizka vodna aktivnost vode (a_w), ki jo dosežejo s soljenjem in sušenjem mesnin. Postopku pravimo zorjenje, kjer pa lahko spontano ali ob dodatku starterskih kulture (običajno gre za bakterije rodu *Lactobacillus*) poteče tudi fermentacija, ki zniža vrednost pH in tako rahlo zakisa maso suhe salame. Vsi

navedeni postopki služijo za mikrobiološko stabilizacijo suhomesni izdelkov (Sonjak in sod., 2011). Suhe salame običajno zorijo pri nadzorovanih temperaturah, ki so med 12 in 22 °C in nadzorovani relativni vlažnosti (Perrone in sod., 2019). Razmere pri izdelavi suhih salam se razlikujejo glede na hitrost fermentacije. Pri hitro fermentiranih salamah fermentacija poteka 5–6 dni pri 26–30 °C. Končna vrednost pH znaša med 4,6 in 4,8, končna vrednost a_w pa med 0,92 in 0,94. Pri srednje hitro fermentiranih suhih salamah fermentacija poteka 4–28 dni pri 22–24 °C, sušenje pa običajno traja 4 tedne. Končna vrednost pH pade pod 5,2, končna vrednost a_w pa je 0,89. Klasične ali počasi fermentirane salame se izdelujejo brez dodatka mlečnokislinskih bakterij. Take salame zorijo pri temperaturi 12–14 °C. Vrednost pH običajno pade na 5,2–5,3, vrednost a_w pa se po 4–6 dnevih zniža na 0,95 (Feiner, 2006).

Plesni so organizmi, ki so v naravi zelo razširjeni, in imajo sposobnost prilagajanja in razvoja na številnih različnih substratih (Peromingo in sod., 2016), zato imajo pomembno vlogo pri proizvodnji suhomesnih izdelkov. Rast plesni na površini mesa je pogosto zaželena, saj lahko zaradi svojih lipolitičnih in proteolitičnih aktivnosti prispevajo k razvoju posebnih okusov in arom suhomesnih izdelkov (Sonjak in sod., 2011). Te površinske glive ščitijo živilo tudi pred patogenimi mikroorganizmi ali kvarljivci. Pri salami na primer ta proces omogoča nastanek značilnega belkastega videza in ščiti pred kvarjenjem, ki ga povzročajo druge glive (Montanha in sod., 2018). Vendar se ob neuporabi starterskih kultur ali če uporabljeni sevi niso skrbno izbrani in če njihova rast med proizvodnjo ni nadzorovana, lahko razvijejo nezaželene kvarne plesni. Te lahko negativno vplivajo na videz, vonj, okus in hranilno vrednost izdelkov ter tako zmanjšajo njihovo kakovost (Sonjak in sod., 2011). Nekatere plesni lahko tvorijo tudi mikotoksine, ki kontaminirajo živilo in so škodljivi za ljudi in živali (Perrone in sod., 2019).

Cilj raziskave je bil ugotoviti, kateri pogoji izdelave suhih salam vplivajo na rast plesni vrste *A. flavus* in tvorbo AFB1, ki velja za enega najbolj strupenih mikotoksinov. Da bi se čim bolj približali pogojem izdelave suhih salam in njeni sestavi, samo poskus izvedli pri treh različnih temperaturah (10 °C, 15 °C in 25 °C). Uporabili smo dve osnovni gojišči: gojišče YES, ki je zasnovano tako, da spodbuja tvorbo mikotoksinov in gojišče CMGY (kuhano mesno gojišče z dodatkom glukoze in kvasnega ekstrakta), ki smo ga pripravili po navodilih Zahija in sod., (2022) z rahlo modifikacijo, s katerim smo se najbolj približali kemijski sestavi suhih salam. Pri obeh gojiščih smo z dodatkom glicerola znižali vrednost a_w , z dodatkom mlečne kisline pa smo znižali vrednost pH. Osnovni gojišči sta prikazani v preglednici 1, gojišča s spremenjenimi vrednostmi a_w in pH pa v preglednici 2. Rast plesni in tvorbo aflatoksinov smo spremljali po 7, 14 in 21 dneh.

Preglednica 1: Osnovni gojišči YES in CMGY

Tip gojišča	Vrednost a_w	Vrednost pH
YES9863	0,98	6,3
CMGY9967	0,99	6,7

Legenda: YES: kvasni ekstrakt s saharozo, CMGY: kuhano mesno gojišče z glukozo in kvasnim ekstraktom; YES9863: gojišče YES z a_w 0,98 in pH 6,3, CMGY9963: gojišče CMGY z a_w 0,99 in pH 6,3.

Preglednica 2: Gojišči YES in CMGY s spremenjenimi vrednostmi a_w in pH

Tip gojišča	Vrednost a_w	Vrednost pH
YES9563	0,95	6,3
YES9554	0,95	5,4
YES9854	0,98	5,4
CMGY9567	0,95	6,7
CMGY9554	0,95	5,4
CMGY9954	0,99	5,4

Legenda: YES: kvasni ekstrakt s saharozo, CMGY: kuhano mesno gojišče z glukozo in kvasnim ekstraktom; YES9863: gojišče YES z a_w 0,98 in pH 6,3, YES9854: gojišče YES z a_w 0,98 in pH 5,4, YES9563: gojišče YES z a_w 0,95 in pH 6,3, YES9554: gojišče YES z a_w 0,95 in pH 5,4, CMGY9863: gojišče CMGY z a_w 0,98 in pH 6,3, CMGY9854: gojišče CMGY z a_w 0,98 in pH 5,4, CMGY9563: gojišče CMGY z a_w 0,95 in pH 6,3, CMGY9554: gojišče CMGY z a_w 0,95 in pH 5,4.

Za analizo in kvantifikacijo aflatoksinov smo izvedli ekstrakcijo z 80 % topilom acetonitrila z 0,5 % dodatkom metanojske kisline. Mikotoksine smo ekstrahirali v ultrazvočni kopeli. Po končani ekstrakciji smo brozgo filtrirali.

Za analizo smo uporabili filtrat, ki smo ga še dodatno redčili. Mikotoksine smo kvantificirali z metodo UPLC-MS/MS (ang. Ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry) (Šturm, 2024).

4 REZULTATI

4.1 VPLIV TEMPERATURE, ČASA, a_w , pH IN SESTAVE GOJIŠČA NA RAST PLESNI

Rast plesni vrste *A. flavus* smo spremljali z merjenjem premera kolonij po 7, 14 in 21 dneh inkubacije pri temperaturah 10 °C, 15 °C in 25 °C. Ugotovili smo, da se premer kolonij linearno povečuje skozi čas ne glede na temperaturo ali gojišče, kar potrjujejo tudi Peromingo in sod., (2016) in Casquete in sod., (2017).

Temperatura ima pomemben vpliv na rast: pri 25 °C je bila rast najhitrejša, saj so kolonije že po 7 dneh dosegle več kot 45 mm, po 21 dneh pa v celoti prerasle petrijevo ploščo na vseh gojiščih YES. Najpočasnejša rast je bila pri 10 °C, kjer je največja izmerjena kolonija po 21 dneh dosegla 39,3 mm (na gojišču YES9854). Rezultati so primerljivi z ugotovitvami Peromingo in sod., (2016) in Casquete in sod., (2017), ki prav tako navajajo 25 °C kot optimalno temperaturo rasti.

Poleg temperature in časa inkubacije ima na rast plesni pomemben vpliv tudi sestava gojišča. Statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med gojišči YES in CMGY smo zaznali pri temperaturi 25 °C v vseh časovnih obdobjih ter pri 10 °C po 14 dneh inkubacije. V vseh primerih so bile kolonije na gojiščih CMGY bistveno manjše kot na gojiščih YES. Pri 25 °C so kolonije na gojiščih YES po 21 dneh povsem prerastle petrijevo ploščo, medtem ko so se velikosti kolonij na gojiščih CMGY pod enakimi pogoji gibale med 70 in 80 mm.

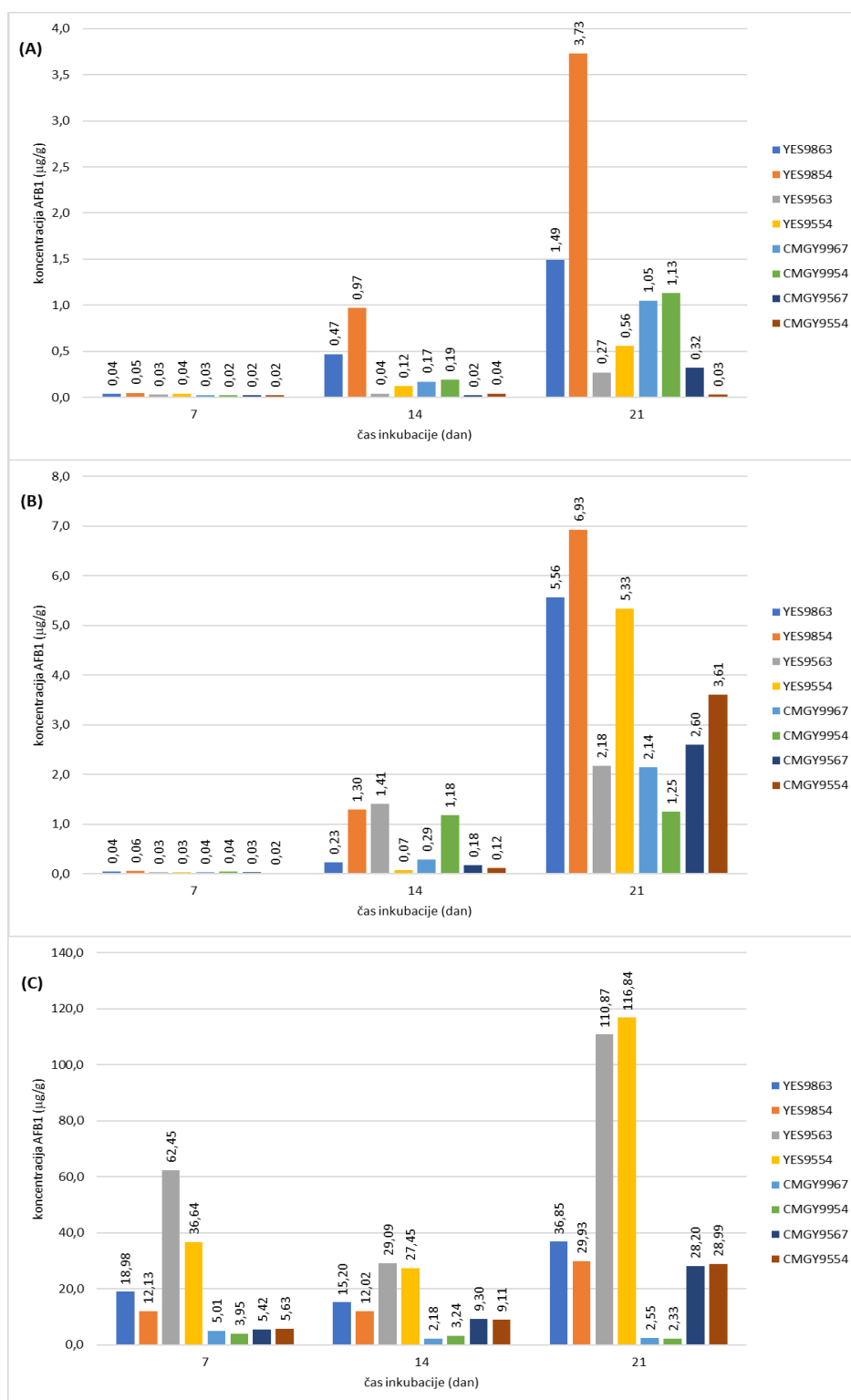
Ugotovili smo tudi, da ima pomemben vpliv na rast plesni vrednost a_w , zlasti pri gojiščih z mesno osnovo. Najmanjšo rast smo izmerili na gojiščih z znižano vrednostjo a_w (CMGY9567 in CMGY9554). Trend rasti nakazuje na to, da ima na rast poleg sestave gojišča vpliv tudi vrednost a_w , in sicer lahko manjšo rast kolonije opazimo pri vrednosti a_w 0,95. Za razliko od vrednosti pH, kjer opazimo večje kolonije pri gojiščih, ki imajo znižano vrednost pH. Rezultati sovpadajo z ugotovitvami raziskovalcev Casquete in sod., (2017), ki so ugotovili, da nekoliko znižana vrednost pH pozitivno vpliva na rast plesni. Najboljšo rast so izmerili pri vrednosti pH 5,5 in vrednosti a_w 0,99. Prav tako so potrdili, da nižja vrednost a_w zmanjša rast plesni, saj so najmanjšo rast zabeležili pri vrednosti a_w 0,95. Trend rasti prav tako nakazuje, da ima na rast večji vpliv vrednost a_w v primerjavi z vrednostjo pH, saj smo pri gojiščih, ki so imela znižano vrednost a_w , ki zmanjša rast, in pH, ki poveča rast, zabeležili manjše kolonije v primerjavi z gojiščem, ki je imelo znižano le vrednost pH. Rezultate so potrdili tudi Bernáldez in sod., (2017), ki so zmanjšano rast opazili pri vrednosti a_w 0,95.

4.2 VPLIV TEMPERATURE, ČASA, a_w , pH IN SESTAVE GOJIŠČA NA TVORBO AFB1

V okviru raziskave smo spremljali tvorbo AFB1 v pogojih, značilnih za proizvodnjo suhih salam. Koncentracijo AFB1 smo določali z metodo UPLC-MS/MS, vzporedno z rastjo plesni *Aspergillus flavus* pri različnih temperaturah (10 °C, 15 °C, 25 °C), časih inkubacije (7, 14, 21 dni), sestavi gojišč ter vrednostih a_w in pH (rezultati so prikazani na sliki 1).

Temperatura in čas kot ključna dejavnika

Rezultati so pokazali, da imata temperatura in čas vpliv na tvorbo AFB1 ($p \leq 0,05$). Po 7 dneh smo tvorbo AFB1 zaznali le pri 25 °C. Koncentracije so bile višje na gojiščih YES (12,13–36,46 µg/g) kot na gojiščih CMGY (3,95–5,63 µg/g). Pri nižjih temperaturah (10 °C, 15 °C) so bile koncentracije AFB1 po 7 dneh zanemarljive ($< 0,06$ µg/g), opazneje so narasle šele po 14 oziroma 21 dneh. Naše ugotovitve podpirajo tudi raziskave Patel in sod., (2014), Peromingo in sod., (2016), Casquete in sod., (2017) in Bernáldez in sod., (2017), ki so potrdili, da čas in temperatura močno vplivata na sintezo AFB1, pri čemer je največja tvorba zaznana med 24–30 °C. Tai in sod., (2020) so dodatno ugotovili, da optimalna temperatura tvorbe AFB1 ni enotna, temveč je odvisna od sestave gojišča – 25 °C pri mesni osnovi in 30 °C pri YES.



Slika 1: Vpliv temperature (A): 10 °C, (B): 15 °C, (C): 25 °C, vrednosti a_w , vrednosti pH, sestave gojišča in časa inkubacije na tvorbo AFB1

Legenda: YES: kvasni ekstrakt s saharozo, CMGY: kuhano mesno gojišče z glukozo in kvasnim ekstraktom; **YES9863:** gojišče YES z a_w 0,98 in pH 6,3, **YES9854:** gojišče YES z a_w 0,98 in pH 5,4, **YES9563:** gojišče YES z a_w 0,95 in pH 6,3, **YES9554:** gojišče YES z a_w 0,95 in pH 5,4, **CMGY9863:** gojišče CMGY z a_w 0,98 in pH 6,3, **CMGY9854:** gojišče CMGY z a_w 0,98 in pH 5,4, **CMGY9563:** gojišče CMGY z a_w 0,95 in pH 6,3, **CMGY9554:** gojišče CMGY z a_w 0,95 in pH 5,4. Rezultati so prikazani kot povprečna vrednost dveh paralelek ($n = 2$)

Vpliv sestave gojišča, a_w in pH

Slika 1 prikazuje tudi vpliv sestave gojišča, vrednosti pH in a_w na tvorbo AFB1. Tvorba AFB1 je bila v gojiščih YES občutno višja kot v gojiščih CMGY, saj smo opazili več kot 50 % razlike pri 25 °C, kar pripisujemo višji vsebnosti ogljika v gojišču YES (Al-Rahdi in sod., 2021). V gojišču CMGY, ki vsebuje manj saharoze, je bila tvorba AFB1 znatno manjša. Nižja vrednost a_w (0,95) je povečala tvorbo AFB1, medtem ko je nižja vrednost pH (5,4) tvorbo zmanjšala, to je še posebno opazno pri 25 °C. Podobne trende so zaznali tudi Casquete in sod. (2017) in Patel in sod. (2014), ki so potrdili, da rahlo kislo okolje zavira tvorbo AFB1. Astoreca in sod. (2014) in Al-Zaban (2023) so optimalno vrednost a_w za tvorbo AFB1 postavili med 0,90 in 0,96, kar se ujema z našimi rezultati.

Zaključimo lahko, da ima največji vpliv na tvorbo AFB1 temperatura, saj smo pri 25 °C opazili do 95 % višje vrednosti AFB1 v primerjavi z nižjimi temperaturami. Sledi čas inkubacije, saj koncentracija AFB1 s časom narašča. Pomemben vpliv imata tudi sestava gojišča ter vrednost a_w in pH, saj pri gojišču YES gojišča spodbujata sintezo toksinov. Kljub vplivu a_w in pH pa so bile razlike pri 10 °C in 15 °C relativno majhne.

5 ZAKLJUČEK

Plesni vrste *A. flavus* kolonizirajo predvsem številne rastline in semena, ki so bogata z oljem. Ker pa veljajo za kserotolerantne organizme, lahko rastejo tudi pri nižji vodni aktivnosti oziroma tolerirajo višje koncentracije soli, zato jih lahko najdemo tudi na suhomesnih izdelkih. Te plesni tvorijo aflatoksine, med njimi tudi AFB1, ki velja za najbolj strupen mikotoksin in je uvrščen v skupino 1 človeških rakotvornih snovi. Ker so aflatoksini na splošno toplotno stabilni, so odporni proti večini tehnoloških postopkov, kot so na primer kuhanje, cvrenje, peka, destilacija in fermentacija. Zato je pomembno, da njihovo tvorbo omejimo že pri pridelavi živil.

V magistrskem delu (Šturm, 2024) smo spremljali vplive razmer za izdelavo suhih salam na rast plesni vrste *A. flavus* in tvorbo AFB1. Proučevali smo vpliv temperature, časa inkubacije, vrednosti a_w , vrednosti pH in sestave gojišča.

Rezultati eksperimentalnih poskusov so pokazali, da na rast plesni vrste *A. flavus* in tvorbo AFB1 vpliva več okoljskih dejavnikov, med katerimi so se kot ključni izkazali čas inkubacije, temperatura, aktivnost vode (a_w), vrednost pH in sestava gojišča.

Čas inkubacije ima pomembno vlogo pri pospeševanju rasti plesni in povečani tvorbi AFB1. Temperatura prav tako izrazito vpliva na presnovno aktivnost plesni – nižje temperature zavirajo tako rast kot tvorbo toksina, pri čemer smo pri 10 °C zaznali le sledi AFB1. Aktivnost vode 0,95 na gojišču YES zavira rast plesni pri vseh testiranih temperaturah ter zmanjšuje tvorbo AFB1 pri 10 °C in 15 °C, medtem ko pri 25 °C znatno poveča njegovo sintezo.

Vpliv pH se je izkazal za nekoliko manj izrazitega. pH 5,4 pri 25 °C zmanjša rast plesni in tvorbo AFB1, nasprotno pa isti pH pri nižjih temperaturah spodbuja rast in tvorbo toksina. Pomemben dejavnik je tudi sestava gojišča – gojišče CMGY je povzročilo zmanjšano rast plesni vrste *A. flavus* in nižjo tvorbo AFB1 v primerjavi z drugimi mediji. Primerjava vpliva a_w in pH je pokazala, da ima aktivnost vode večji vpliv na tvorbo AFB1 kot pH.

Mikotoksini izjemno kompleksne spojine in je zato njihova kvantifikacija otežena. Razlog za kompleksnost aflatoksnov se nahaja v sami tvorbi. Aflatoksini so produkt zapletene biosinteze, ki vključuje vsaj 27 encimskih reakcij. Geni, ki kodirajo te encime, so združeni v skupek, njihovo izražanje usklajujeta dva za skupek specifična regulatorja: *afR* in *afS*. Kljub temu je sinteza AF kot sekundarnega metabolita odvisna tudi od drugih zapletenih mehanizmov, ki se sprožijo kot odziv na okoljske dražljaje, vključno s pH, svetlobo, viri hranil in a_w , kar lahko aktivira različne celične signalne poti, ki povzročijo modulacijo izražanja genov, vključenih v sintezo toksinov (Caceres in sod., 2020). Poleg tega se lahko aflatoksini pretvarjajo iz ene oblike v drugo, kot so na primer AFM1, AFB0 AFB2, AFB2a, ti pa se lahko naprej pretvarjajo v druge aflatoksine, Tako poznamo vsaj 16 različnih aflatoksinov, ki lahko prehajajo iz ene oblike v drugo (Liao in sod., 2020). Poleg tega poznamo tudi modificirane

mikotoksine, ki imajo nekoliko spremenjeno strukturo, kar otežuje njihovo zaznavo z običajnimi analitskimi metodami. Modificirani mikotoksini se pojavljajo skupaj s prostimi mikotoksini, ena oblika pa se lahko pretvarja v drugo. V nekaterih primerih lahko koncentracija modificiranega mikotoksina preseže koncentracijo prostega mikotoksina in v takih primerih so analizni podatki zavajajoči, saj z običajnimi analitskimi tehnikami zaznamo bistveno manj mikotoksina, kot ga je v resnici (Freire in Sant'Ana, 2018). Obstajajo tudi tako imenovani vezani mikotoksini. To so mikotoksini, ki (1) tvorijo komplekse s spojinami matriksa ali so v matriksu fizično raztopljeni ali celo ujeti v njem. Lahko so tudi (2) kovalentno vezani na komponente matriksa, (3) gre pa lahko za kombinacijo obeh učinkov (Rychlik in sod., 2014). Makrokomponente matriksa mikotoksine "prikrijejo", zaradi česar je tveganje skupne izpostavljenosti mikotoksinom podcenjeno. Večina sedanjih poročil se osredotoča na proste in modificirane mikotoksine, medtem ko so oblike, povezane z matriksom, prezrte, vendar lahko po zaužitju še vedno delujejo toksično. Pretvorbo iz prostih mikotoksinov v vezane mikotoksine in obratno povzročijo prisotni encimi, temperatura in raven pH. Zaradi pomanjkanja učinkovitih metod, ki bi sprostile mikotoksine iz matrice, standardne analitske metode do zdaj še niso bile razvite (Tan in sod., 2022).

Ti rezultati in dejstva poudarjajo kompleksno medsebojno delovanje različnih okoljskih dejavnikov pri rasti plesni vrste *A. flavus* in tvorbi AFB1, kar je ključnega pomena za razvoj strategij za preprečevanje kontaminacije živil in krme s toksičnimi metaboliti plesni. Poleg tega se bo v prihodnje pomembno osredotočiti na razvoj novih strategij za odkrivanje prikritih in vezanih AF v živilih, predvsem pa tudi na preprečevanje njihove tvorbe.

6 VIRI

- Adam M. A. A., Tabana Y. M., Musa K. B., Sandai D. A. 2017. Effects of different mycotoxins on humans, cell genome and their involvement in cancer. *Oncology Reports*, 37, 3: 1321–1336, <https://doi.org/10.3892/or.2017.5424>
- Al-Rahdi A., Adhab M., Hussein H. 2021. Production of pure Aflatoxin B1 (AFB1) using different media. V: *Third International Sustainability and Resilience Conference: Climate Change*, Sakheer, Bahrain: 151–154, <https://doi.org/10.1109/ieeeeconf53624.2021.9668050>
- Al-Zaban M. I. 2023. Impacts of temperature and water activity interactions on growth, aflatoxin B1 production and expression of major biosynthetic genes of AFB1 in *Aspergillus flavus* isolates. *Microorganisms*, 11, 5: 1199, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051199>
- Astoreca A., Vaamonde G., Dalcero A., Marin S., Ramos A. 2014. Abiotic factors and their interactions influence on the co-production of aflatoxin B1 and cyclopiazonic acid by *Aspergillus flavus* isolated from corn. *Food Microbiology*, 38: 276–283, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.07.012>
- Benkerroum N. 2020. Aflatoxins: producing-molds, structure, health issues and incidence in Southeast Asian and Sub-Saharan African countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 4: 1215, <https://doi.org/10.3390/ijerph17041215>
- Bernáldez V., Córdoba J. J., Magan N., Peromingo B., Rodríguez A. 2017. The influence of ecophysiological factors on growth, aflR gene expression and aflatoxin B1 production by a type strain of *Aspergillus flavus*. *LWT - Food Science and Technology*, 83: 283–291, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.030>
- Caceres I., Khoury A. A., Khoury R. E., Lorber S., Oswald I. P., Khoury A. E., Atoui A., Puel O., Bailly J.-D. 2020. Aflatoxin biosynthesis and genetic regulation: a review. *Toxins*, 12, 3: 150, <https://doi.org/10.3390/toxins12030150>
- Casquete R., Benito M. J., Córdoba M. de G., Ruiz-Moyano S., Martín A. 2017. The growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* strains on a cheese model system are influenced by physicochemical factors. *Journal of Dairy Science*, 100, 9: 6987–6996, <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12865>
- El-Sayed R. A., Jebur A. B., Kang W., El-Demerdash F. M. 2022. An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis. *Journal of Future Foods*, 2: 91–102, <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.002>
- Feiner G. 2006. *Meat products handbook: Practical science and technology*. Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 337–397
- Freire L., Sant'Ana A. S. 2018. Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects. *Food and Chemical Toxicology*, 111: 189–205, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.021>

- Kępińska-Pacelik J., Biel W. 2021. Alimentary risk of mycotoxins for humans and animals. *Toxins*, 13, 11: 822, <https://doi.org/10.3390/toxins13110822>
- Liao J., He Z., Xia Y., Lei Y., Liao B. 2020. A review on biosynthesis and genetic regulation of aflatoxin production by major *Aspergillus* fungi. *Oil Crop Science*, 5: 166-173, <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2020.11.001>
- Mahato D. K., Lee K. E., Kamle M., Devi S., Dewangan K. N., Kumar P., Kang S. G. 2019. Aflatoxins in food and feed: An overview on prevalence, detection and control strategies. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2266, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02266>
- Montanha F. P., Anater A., Burchard J. F., Luciano F. B., Meca G., Manyes L., Pimpão C. T. 2018. Mycotoxins in dry-cured meats: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 111: 494-502
- Patel T. K., Anand R., Singh A. P., Shankar J., Tiwary B. N. 2014. Evaluation of aflatoxin B1 biosynthesis in *A. flavus* isolates from central India and identification of atoxigenic isolates. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19: 1105–1113
- Peromingo B., Rodríguez A., Bernáldez V., Delgado J., Rodríguez M. 2016. Effect of temperature and water activity on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* on cured meat model systems. *Meat Science*, 122: 76–83
- Perrone G., Rodriguez A., Magistà D., Magan N. 2019. Insights into existing and future fungal and mycotoxin contamination of cured meats. *Current Opinion in Food Science*, 29: 20-27
- Pleadin J., Lešić T., Miličević D., Markov K., Šarkanj B., Vahčić N., Kmetič I., Zadavec M. 2021. Pathways of mycotoxin occurrence in meat products: A review. *Processes*, 9: 2122, <https://doi.org/10.3390/pr9122122>
- Rushing B. R., Selim M. I. 2018. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology*, 124: 81-100, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.047>
- Rychlik M., Humpf H. U., Marko D., Dänicke S., Mally A., Berthiller F., Klaffke H., Lorenz N. 2014. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. *Mycotoxin Research* 30, 4: 197-205, <https://doi.org/10.1007/s12550-014-0203-5>
- Sonjak S., Ličen M., Frisvad J. C., Gunde-Cimerman N. 2011. The mycobiota of three dry-cured meat products from Slovenia. *Food Microbiology*, 28, 3: 373–376, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.09.007>
- Šturm, Z. 2024. Rast plesni vrste *Aspergillus flavus* in tvorba aflatoksina B1 v značilnih razmerah za izdelavo suhih salam. Magistrsko delo. Biotehniška fakulteta. Ljubljana. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=158537&lang=slv>
- Tai B., Chang J., Liu Y., Xing F. 2020. Recent progress of the effect of environmental factors on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production on foods. *Food Quality and Safety*, 4, 1: 21-28, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz040>
- Tan H., Zhou H., Guo T., Zhou Y., Wang S., Liu X., Zhang Y., Ma L. 2022. Matrix-associated mycotoxins in foods, cereals and feedstuffs: A review on occurrence, detection, transformation and future challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64: 11, <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2131724>
- Zahija Jazbec I., Demšar L., Jeršek B., Polak T. 2024. Meat starter culture reduces *Aspergillus parasiticus* production of aflatoxins on meat-based and salami model media. *Toxins*, 16: 173, <https://doi.org/10.3390/toxins16040173>

TEHNOLOGIJA IZDELAVE LIOFILIZIRANE OVČJE ALBUMINSKE SKUTE TER NJENA UPORABNOST V PREHRANI ŠPORTNIKOV IN GASTRONOMIJI

Andreja ČANŽEK MAJHENIČ¹ in Maruša ŠTANGAR²

Povzetek: Magistrska naloga obravnava inovativen pristop k podaljšanju roka uporabnosti ovčje albuminske skute (OAS) z liofilizacijo, s ciljem povečanja njene uporabnosti v športni prehrani in visoki gastronomiji. Raziskava podrobno obravnava proizvodni proces izdelave OAS, postopek njene liofilizacije, ocenjuje dodano vrednost končnega izdelka - liofilizirane ovčje albuminske skute (LOAS). Ugotavlja se potencialne možnosti uporabe LOAS in o tem zbira mnenja strokovnjakov s področij klinične športne prehrane in visoke gastronomije. Glavni rezultati kažejo na učinkovitost liofilizacije pri podaljšanju obstojnosti in s tem razširitvi možnosti uporabe OAS. Strokovnjaki prepoznajo potencial LOAS tako v športni prehrani kot v visoki gastronomiji, cenijo njene zdravstvene prednosti, priročnost, široke možnosti vključevanja v različne jedi in edinstvenost. LOAS predstavlja hranljivo, priročno alternativo visoko predelanim beljakovinskim dodatkom, medtem ko je njena izdelava v skladu s trajnostnimi kmetijskimi praksami in prispeva h krožnemu gospodarstvu. Kljub potrditvi uporabnega potenciala LOAS s strani prehranskih in gastronomskih strokovnjakov raziskava nakazuje na potrebo po nadaljnjem razvoju izdelka. LOAS predstavlja obetaven izdelek predvsem za butično proizvodnjo izdelkov z dodano vrednostjo.

Ključne besede: ovčja albuminska skuta, liofilizacija, inovativna živila, športna prehrana, gastronomija

PRODUCTION TECHNOLOGY OF FREEZE-DRIED SHEEP RICOTTA AND ITS APPLICATIONS IN SPORTS NUTRITION AND GASTRONOMY

Abstract: The master thesis explores an innovative approach to extend the shelf life of sheep ricotta through freeze-drying, aiming to enhance its utility in sports nutrition and high gastronomy. The study thoroughly documents the production process of sheep ricotta, its freeze-drying process, evaluates the added value of the final product - freeze-dried sheep ricotta. It identifies potential applications of freeze-dried sheep ricotta, and gathers opinions of experts from the fields of clinical sports nutrition and high gastronomy about it. Main findings indicate the effectiveness of freeze-drying in extending shelf life and consequently expanding the use of sheep ricotta. Experts recognize freeze-dried sheep ricotta's potential in sports nutrition and high gastronomy, valuing its health benefits, convenience, broad possibilities for inclusion in various dishes, and uniqueness. LOAS serve as a nutritious, convenient alternative to highly processed protein supplements, while its production aligns with sustainable agricultural practices and contributes to a circular economy. Despite confirmation of freeze-dried sheep ricotta's potential by nutrition and culinary experts, the study suggests the need for further product development. LOAS presents a promising product, especially for boutique production of value-added products.

Keywords: sheep ricotta, freeze-drying, innovative food, sports nutrition, gastronomy

¹ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Domžale, e-mail: andreja.canzek@bf.uni-lj.si

² mag. inž. živil., vrhunška športnica, Ministrstvo za obrambo, Slovenska vojska, Športna enota, Vojkova cesta 55, 1000 Ljubljana, e-mail: stangar.marusa@gmail.com

1 UVOD

Za ovčerejo je značilna sezonska reja, kar pomeni da se v sezoni molže ovčje mleko intenzivno predeluje v mlečne izdelke, zlasti siriščne sire (Slanovec, 1982). Pri tem nastajajo velike količine sladke sirotke, stranskega toka, ki je zaradi svojih lastnosti (bogata biokemijska sestava, ogromne količine, kratek rok obstojnosti), obremenjujoč za okolje. Zato je sirotka atraktivna surovina za predelavo, zlasti v albuminsko skuto (AS), kjer izkoristimo toplotno občutljive biološko visoko vredne sirotkine beljakovine (SiB). Ovčja AS (OAS) sodi v skupino AS, z najbolj znano rikoto (Slanovec, 1982; Haenlein in Wendorff, 2006).

Ker v sezoni nastajajo viški OAS, izven sezone pa ta izdelek ni na voljo, so se na Ovčarski kmetiji Urban (OKU) odločili za reševanje zadrege na inovativen in trajnosten način. OAS liofilizirajo. Pri tem nastane sekundarna sirotka, ki jo sosedje izkoristijo za krmo prašičem, s čimer stremijo h krožnemu gospodarstvu in zmanjševanju obremenitev okolja.

Liofilizacija (L) je energetsko potraten, dolgotrajen in drag postopek sušenja z zamrzovanjem, a hkrati zelo podaljša obstojnost živil ter ohrani njihovo biološko vrednost (BV) (Assegehegn in sod., 2020). Tako za liofilizirano OAS (LOAS) ne potrebujemo več hladne verige, hkrati pa predstavlja inovativno in privlačno živilo. LOAS nudi široke možnosti uporabe, predvsem kot visoko vreden beljakovinski prigrizek oz. dodatek jedem za športnike in kot posebnost v gastronomiji. Beljakovinsko bogata ter ne- ali malo predelana živila kot so mlečni izdelki, jajca, meso in ribe, so pogosto v nepraktičnih oblikah za športnika, ki potrebuje malico "to-go" in/ali nima možnosti vzdrževanja hladne verige. To je eden od razlogov za razširjeno uporabo beljakovinskih praškov in ploščic, ki pa so visoko predelana živila, ki se jim je z zdravstvenega vidika bolje izogibati, saj imajo med drugim negativen vpliv na črevesno mikrobioto (Zannini in sod., 2022). LOAS tako predstavlja bolj zdravo, priročno alternativo, ki pa je hkrati pritegnila pozornost gastronske stroke, kako ob številnih kulinarčnih idejah ponuditi gostu nekaj inovativnega, svežega, trajnostnega, čimbolj naravnega, poznanega, a v novi preobleki.

Naša naloga se je soočila z več cilji in sicer dokumentirati ter opisati tehnološki postopek izdelave OAS in LOAS, ovrednotiti dodano vrednost LOAS kot rešitev sezonskih presežkov in kratkega roka uporabnosti OAS, opredeliti možne aplikacije LOAS ter nenazadnje pridobiti mnenja strokovnjakov na področju klinične športne prehrane in gastronomije. Ob tem smo si zastavili dve hipotezi, da L predstavlja učinkovito tehnologijo za podaljševanje obstojnosti in ohranjanje BV OAS, kar razširi možnosti njene uporabe, in da ima LOAS potencial tako v klinični športni prehrani kot tudi v gastronomiji.

2 OVČJE MLEKO

Ovčje mleko ima, v primerjavi s kravjim, več suhe snovi, predvsem na račun večje vsebnosti beljakovin in maščob. V povprečju vsebuje 5,6 % beljakovin, 7,0 % maščob, 4,7 % laktoze in 0,9 % mineralnih snovi (Anusha Siddiqui in sod., 2024).

2.1 PREDSTAVITEV OVČARSKE KMETIJE URBAN

OKU je locirana v Gabrijelah na Dolenjskem in se osredotoča na predelavo lastnega ovčjega mleka z oznako zajamčene tradicionalne posebnosti (ZTP). Ima več kot 60 živali mlečne pasme, križank med bovško in frizijsko pasmo. OKU poudarja seneno prirejo mleka (Zavod seneno meso in mleko) in ponuja različno zrele poltrde ovčje sire, ovčje jogurte, ovčji skyr, surovo ovčje mleko, OAS in sirotko, nedavno so dodali še linijo liofiliziranih izdelkov. Ker je liofilizacija energetsko zelo potratna in ker je kmetija trajnostno naravnana ter stremi h krožnemu gospodarstvu, ima lastno elektrarno. Slika 1 prikazuje logotip OKU.



Slika 1: Logotip Ovčarske kmetije Urban (OKU)

2.2 PREHRANSKI, GASTRONOMSKI IN TEHNOLOŠKI POMEN OVČJEGA MLEKA

Ovčje mleko je bogat vir visokokakovostnih beljakovin, esencialnih aminokislin in bioaktivnih peptidov, kot tudi kalcija, fosforja in vitaminov (Anusha Siddiqui in sod., 2024; Haenlein in Wendorff, 2006). Je tipično kazeinsko mleko, saj prevladujejo kazeini (80%; α S1, α S2, β in κ), medtem ko predstavljajo serumske beljakovine (SeB) le 20% vseh beljakovin in med izdelavo siriščnih sirov preidejo v sirotko (Haenlein in Wendorff, 2006). Za alergije za beljakovine mleka naj bi bil odgovoren predvsem α S1 kazein, ki pa naj bi hkrati imel pomembno tehnološko nalogo pri sirjenju. Njegova velika vsebnost v ovčjem mleku (15,6-17,6 g/L; v kravjem 8,0-10,7 g/L; v kozjem 0-13 g/L) ugodno vpliva na njegovo tehnološko kakovost, medtem ko je z vidika alergenosti manj primerno za uživanje. Mlečna maščoba je vir energije in esencialnih maščobnih kislin. Vsebuje holin, konjugirano linolno kislino, holesterol, v maščobi topne vitamine (Claeys in sod., 2014) ter, v primerjavi s kravjim, več koristnih srednjeverzičnih trigliceridov (medium-chain triglycerides, MCT), enkratnenasičenih in esencialnih večkratnenasičenih maščobnih kislin, na kar vplivata krma ovc in klimatski pogoji (Haenlein in Wendorff, 2006). MCT izkoriščamo drugače kot dolgoverižne maščobne kisline, ki predstavljajo večino zaužitih maščob v vsakodnevni prehrani (Burke in Deakin, 2010). Laktoze je približno toliko kot v kravjem mleku, predstavlja pa vir energije, je lahko prebavljiva in ni kariogena. Sodeluje pri absorpciji Ca, Mg in P ter izboljša izkoristljivost vitamina D. Fermentacija laktoze v črevesju ugodno vpliva na črevesno mikrobioto z znižanjem pH, kar zavira rast neželenih gnilobnih bakterij, spodbuja peristaltiko ter olajša razgradnjo beljakovin in maščob. Lahko pa je problem za posameznike z laktozno intoleranco, zato so zanje primernejši fermentirani mlečni izdelki, kot so fermentirano mleko ali dolgo zoreni siri (Haenlein in Wendorff, 2006).

Ovčje mleko ima bogat, poln, nežen in rahlo sladkast okus, kar je najverjetneje posledica velike vsebnosti suhe snovi. K značilnemu okusu ovčjega mleka "po ovci" prispeva maščoba oz. njeni gradniki, kaprilna, kaprinska in kapronska maščobna kislina. Slednje so, tako v ovčjem kot tudi kozjem mleku, v večjih količinah kot v kravjem (Anusha Siddiqui in sod., 2024; Haenlein in Wendorff, 2006). Značilne lastnosti izdelkom iz ovčjega mleka, predvsem sirom, dajo tudi številne druge prisotne MCT ovčjega mleka (Mohapatra in sod., 2019). Ovčje mleko je zaradi večje vsebnosti suhe snovi ($\approx 18\%$), α s1 kazeina in posledično boljših tehnoloških lastnosti primernejše za predelavo v mlečne izdelke kot mleko drugih, nam »blizu« molznih živali, zato ga redkeje najdemo na prodaj kot konzumno mleko (Anusha Siddiqui in sod., 2024; Haenlein in Wendorff, 2006). Sir in jogurt iz ovčjega mleka sta najbolj priljubljena (Anusha Siddiqui in sod., 2024). Prav zaradi večje vsebnosti suhe snovi je za predelavo v sir potrebno manj ovčjega mleka (6:1) kot kravjega (10:1) (Haenlein in Wendorff, 2006).

2.3 PREDELAVA OVČJEGA MLEKA V SIR, IZDELAVA AS, LIOFILIZACIJA

Zaradi zelo dobrih tehnoloških lastnosti je ovčje mleko zelo primerno za predelavo, zlasti sire, ki so lahko iz surovega, termiziranega ali pasteriziranega mleka. Lahko so sveži, mehki brez ali s plemenito plesnijo, poltrdi, trdi in sirotkini ovčji siri. Med svetovno najbolj znane ovčje siriščne sire sodijo italijanski Pecorino, francoski Roquefort, španski Manchego in grška Feta (Haenlein in Wendorff, 2006). Zelo znan je tudi hrvaški Paški sir ter slovenska Bovški sir (Pravilnik o označbi ..., 2004) in Kraški ovčji sir (Pravilnik o Kraškem..., 2008).

AS je sveži sir, pridobljen s toplotnim izločanjem SiB iz sirotke (Pravilnik o kakovosti mleka ..., 1993). Poleg toplotne obdelave sirotke, ki je vodilna denaturacijska tehnika, lahko ob tem v segreto sirotko dodamo še majceno količino kisline, ki z odtegotvanjem kalcija iz toplotno odpornejšega alfa-laktalbumina izboljša denaturacijo. Med AS prištevamo italijansko rikoto (tudi pastirska skuta), ter bovško in bohinjsko sirarsko skuto (Haenlein in Wendorff, 2006; Slanovec, 1982).

L je tehnološki postopek, ki zmanjša razgradne procese in reakcije z drugimi komponentami matriksa, a ker je hkrati energetsko in časovno potraten ter drag proces (Assegehegn in sod., 2020), se postopek ciljano uporablja za sušenje delikatnih bioloških vzorcev.

2.4 PREHRANA VRHUNSKEGA ŠPORTNIKA IN MLEČNI IZDELKI

Za vrhunskega športnika je prehrana eden od ključnih elementov za njegovo uspešnost in vzdržljivost na najvišji ravni, saj telo oskrbuje z energijo ter hkrati podpira procese okrevanja, povečuje zmogljivost in zmanjšuje možnost poškodb. Zato mora vrhunski športnik znati uravnotežiti vnos makrohranil (beljakovine, ogljikovi hidrati, maščobe) in mikrohranil (vitamini, minerali) ter skrbeti za ustrezno hidracijo. Da pa so pri tem čim uspešnejši, se pogosto zatekajo k športnim kliničnim dietetikom, da razvijejo prilagojeno prehransko strategijo (Burke in Deakin, 2010; Štangar in sod., 2022).

Mleko in mlečni izdelki so v prehrani vrhunskega športnika pomemben vir energije, beljakovin, ogljikovih hidratov in mikrohranil ter predstavljajo odlične (re)hidracijske pijače, ki so primerni za uživanje pred, med ali po treningih (Beigrezaei in sod., 2021). Mlečna maščoba je vir esencialnih maščobnih kislin in v maščobah topnih vitaminov. Beljakovine, ki jih športnik zaužije z mlekom in mlečnimi izdelki, podpirajo mišično hipertrofijo. Mlečni izdelki so celo med živil z največ DIAAS (ang. Digestible Indispensable Amino Acid Score) točkami (FAO, 2011).

Glede na hitrost prebave in absorpcije so SeB in kazeini označeni kot "hitre" oz. "počasne" beljakovine. Uživanje SiB ob ustreznem treningu ugodno vpliva na povečanje puste telesne mase, k temu pa prispevajo tudi nekateri minerali, ki so v mlečnih izdelkih iz sirotke. Laktozo najdemo v mleku v podobnih koncentracijah kot je vsebnost ogljikovih hidratov oz. sladkorjev v drugih športnih pijačah, kar skupaj z naravno prisotnimi elektroliti naredi mleko eno najboljših rehidracijskih pijač (Beigrezaei in sod., 2021; Maughan in sod., 2016).

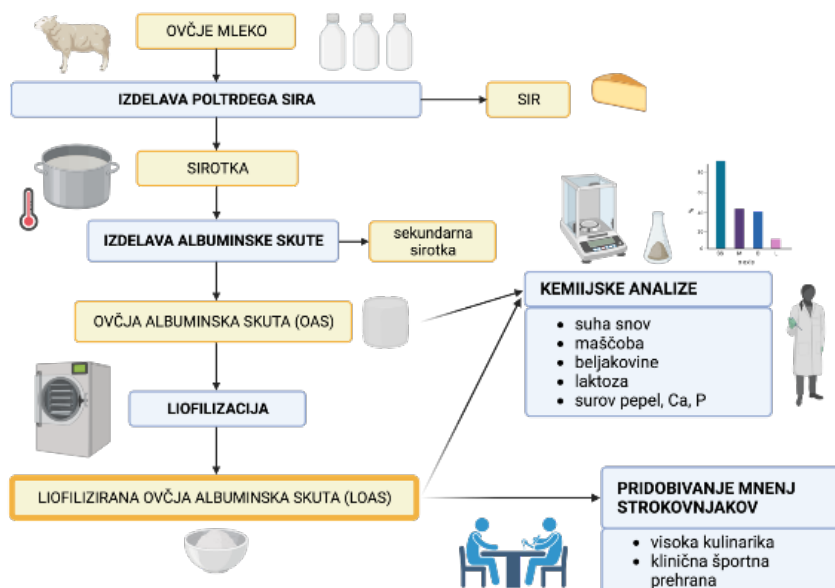
2.5 GASTRONOMIJA IN INOVATIVNI IZDELKI

V svetu visoke kulinarike in gastronomije ima vse večji pomen uporaba lokalnih inovativnih izdelkov, kar so na podlagi 213 kulinarčnih doživetij ugotovili tudi Kumer in sod., (2019).

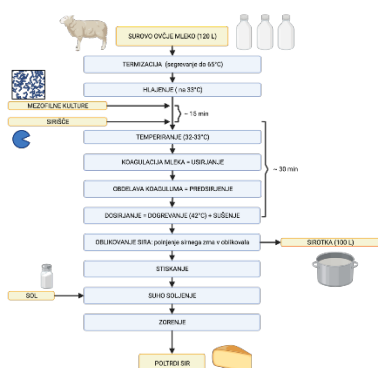
3 MATERIAL IN METODE

3.1 POTEK DELA

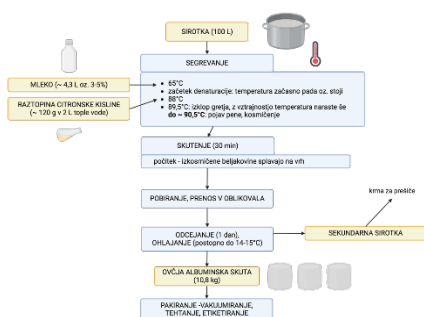
Slike 2, 3, 4 in 5 prikazujejo potek dela naloge, izdelavo ovčjega sira, izdelavo OAS ter liofilizacijo izdelane OVS. Vse slike so v mag. nalogi Štangar (2024).



Slika 2: Potek praktičnega dela magistrske naloge



Slika 3: Shema tehnološkega postopka izdelave poltrdega ovčjega sira



Slika 4: Shema tehnološkega postopka izdelave ovčje albuminske skute (OAS)



Slika 5: Ovčja albuminska skuta v shockerju (levo) in liofilizatorju (desno)

4 REZULTATI

4.1 KEMIJSKA ANALIZA OAS IN LAOS

Preglednica 1 prikazuje rezultate kemijske analize OAS in LOAS, medtem ko Preglednica 2 primerja rezultate kemijske sestave OAS OKU s podobnimi izdelki malih proizvajalcev na našem trgu. Obe Preglednici sta v mag. nalogi Štangar (2024).

Preglednica 1: Rezultati analize ovčje albuminske skute in liofilizirane ovčje albuminske skute

Vzorec	M ^a	N ^a	NPN ^a	N-NPN ^a	B* ^a	L ^a	SS ^a	M/SS ^a	SP ^a	Ca ^b	P ^b
OAS	12,63	1,787	0,0792	1,7078	10,90	3,25	27,57	0,458	0,51	56,8	57,4
LOAS	41,68	6,471	0,2208	6,2208	39,69	12,62	98,37	0,424	2,52	198,5	219,7

^a g/100

^b mg/100g

* izračunano po enačbi $(N-NPN) \times 6,38$

M = maščoba; N = dušik; NPN = neproteinski dušik; B = beljakovine; L = laktoza; SS = suha snov; M/SS = maščobe v suhi snovi; SP = surov pepel; Ca = kalcij; P = fosfor; OAS = ovčja albuminska skuta; LOAS = liofilizirana OAS

Preglednica 2: Primerjava osnovne kemijske sestave OAS s podobnimi izdelki malih proizvajalcev na slovenskem trgu

Ime izdelka	Proizvajalec	SS ^a	M ^a	B ^a	L ^a
OAS	Ovčarska kmetija Urban	27,57	12,63	10,90	3,25
OAS	Ovčarska kmetija Urban	25,45	9,35	12,00	2,90
Ovčja albuminska skuta	Sirarstvo Orel	≈30	≈6,90	≈18	/
Sirarska ovčja skuta	Kmetija Pustotnik	30,8	7,20	19	4,60
Lahka ovčja albuminska skuta	Ekološka kmetija in sirarstvo Konda	min. 22	0	6,20	3,00
			(max. 2)		

^a g/100

SS = suha snov; M = maščoba; B = beljakovine; L = laktoza; OAS = ovčja albuminska skuta

5 ZAKLJUČEK

Sezonska reja ovc povzroča prirejo velikih količin mleka naenkrat in posledično velikih količin ovčje sirotke, če iz tega mleka izdelujemo sir. Ker je sirotka veliko breme za okolje, jo pogosto predelujemo, zlasti v AS kot je rikota, ki pa ima kratek rok uporabe. Na OKU so z L OAS našli trajnostno rešitev za podaljšanje roka uporabe in izogibanje potrebi po hladni verigi, kar hkrati omogoča širšo uporabo take AS (LOAS), zlasti kot visokovreden beljakovinski dodatek za športnike in v gastronomiji. L ohranja BV OAS, naredi bolj zdravo alternativo visoko predelanim beljakovinskim dodatkom in spodbuja inovativnost v kuhinji. V okviru magistrske naloge smo spremljali tehnološki postopek izdelave poltrdega ovčjega sira, izrabo stranskega toka (sirotke) za izdelavo OAS in L OAS. Ugotavljali smo kemijsko sestavo OAS in LOAS (Preglednici 1 in 2). Poleg tega nas je zanimal potencial LOAS v klinični športni prehrani in visoki kulinariki, zato smo izdelek predstavili in se pogovarjali s tremi (Eva Peklaj, Evgen Benedik in Helena Okorn) oz. štirimi strokovnjaki (Sabina Repovž, Bruno Šulman, Tomaž Sršen in Danijel Đekić) z omenjenih področij.

Izdelava OAS na OKU vključuje dodatek 3–5 % polnomastnega ovčjega mleka, kar ugodno vpliva na izkoristek. Z analizami kemijske sestave LOAS smo ugotovili, da je L zmanjšala vsebnost zaostale vode na <2 %, kar naredi LOAS mikrobiološko stabilen izdelek, ki ne potrebuje vzdrževanja hladne verige. LOAS predstavlja koncentriran vir hranil (41,68 % maščob, 39,69 % beljakovin, 12,62 % laktoze) in energije (584 kcal/100 g), vsebuje 2,52 % surovega pepela, 198,5 mg Ca/100 g in 219,7 mg P/100 g. Glede na vsebnost posameznih hranil LOAS zadosti pogojem za sledeče prehranske trditve: “Visoka vsebnost beljakovin.”, “Vir kalcija.” in “Visoka vsebnost fosforja.” LOAS v trenutni izvedbi ni primerno živilo za posameznike z laktozno intoleranco. Vsi prehranski strokovnjaki so mnenja, da je LOAS ustrezna za umestitev v prehrano športnika, saj predstavlja dober vir beljakovin z visoko BV, vsebuje pomembna mikrohranila (kalcij, fosfor), ni prehransko dopolnilo, je praktičen in obstojen izdelek, primeren za na pot ter je blagega okusa (vključevanje LOAS v različne jedi), kar poenostavi pokrivanje športnikovih dnevnih potreb po beljakovinah in energiji. Za športnike, ki morajo omejevati dnevni energijski vnos, bi bila primernejša različica LOAS z zmanjšano vsebnostjo maščob, kar je tehnološko preprosto izvedljivo. Strokovnjakom gastronomije se zdi LOAS zanimiv izdelek, ki ga odlikuje edinstvena, nepričakovana oblika AS, njen blag okus bi nadgradili s harmoničnim kombiniranjem z drugimi živili in pri tem pazili, da ne prekrijemo značilne zaželenne arome “po ovci”. Pomembno vlogo igrata lokalnost in trajnostna proizvodnja. Kljub potrditvi potenciala LOAS raziskava nakazuje potrebo po nadaljnjem razvoju izdelka (izboljšanje topnosti oz. povečanje odpornosti proti vlagi, razvoj brezlaktozne različice LOAS, LOAS z zmanjšano vsebnostjo maščob, razvoj na področju pakiranja). LOAS predstavlja obetaven izdelek predvsem za butično linijo zaradi svoje edinstvenosti, visoke prehranske kakovosti in trajnostne proizvodnje.

6 VIRI

Anusha Siddiqui S., Mahmood Salman S. H., Ali Redha A., Zannou O., Chabi I. B., Oussou K.F., Bhowmik S., Nirmal N. P., Maqsood S. 2024. Physicochemical and nutritional properties of different non-bovine milk and dairy products: A review. International Dairy Journal, 148: 105790, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105790>

- Assegehegn G., Brito-de la Fuente E., Franco J. M., Gallegos C. 2020. Freeze-drying: A relevant unit operation in the manufacture of foods, nutritional products, and pharmaceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 93: 1–58, <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.04.001>
- Beigrezaei S., Forbes S., Kaviani M., Roy B. 2021. Role of dairy foods in sport nutrition. V: *Dairy Foods: Processing, Quality, and Analytical Techniques*. Elsevier B.V.: 339–364, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820478-8.00009-2>
- Burke L., Deakin, V. (ur.). 2010. *Clinical Sports Nutrition*. 4th ed. McGraw-Hill Australia Pty Ltd.: 715 str.
- Claeys W. L., Verraes C., Cardoen S., De Block J., Huyghebaert A., Raes K., Dewettinck, K., Herman, L. 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 42, 188–201, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.045>
- FAO. 2011. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper, 92. Auckland, New Zealand: <https://www.fao.org/ag/humannutrition/35978-02317b979a686a57aa4593304ffc17f06.pdf> (marec 2025)
- Haenlein G. F. W., Wendorff W. L. 2006. Sheep milk. V: *Handbook of milk of non-bovine mammals*. Park Y. W., Haenlein G. F. W. (ur.). Ames, Blackwell Publishing: 137–194
- Kumer P., Pipan P., Hribar M. Š., Visković N. R. 2019. The role of actors' cooperation, local anchoring and innovation in creating culinary tourism experiences in the rural slovenian mediterranean. *Geografski Vestnik*, 91(2), 9–38, <https://doi.org/10.3986/GV91201>
- Maughan R. J., Watson P., Cordery P. A., Walsh N. P., Oliver S. J., Dolci A., Rodriguez-Sanchez N., Galloway S. D. 2016. A randomized trial to assess the potential of different beverages to affect hydration status: Development of a beverage hydration index. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 103(3), 717–723, [10.3945/ajcn.115.114769](https://doi.org/10.3945/ajcn.115.114769)
- Mohapatra A., Shinde A. K., Singh R. 2019. Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Ruminant Research*, 181, 6–11, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>
- Pravilnik o kakovosti mleka, mlečnih izdelkov, siril in čistih cepiv. 1993. Ur. l. RS, št. 21/93 (pogojno, ne velja več) <https://www.uradni-list.si/glasilo-uradni-list-rs/vsebina/1993-01-0991>
- Pravilnik o Kraškem ovčjem siru z zaščiteno označbo porekla. 2008. Ur. l. RS, št. 29/08
- Pravilnik o označbi geografskega porekla Bovški sir. 2004. Ur. l. RS, št. 47/04
- Štangar M., Štangar A., Shtyrba V., Cigić B., Benedik E. 2022. Rapid weight loss among elite-level judo athletes: methods and nutrition in relation to competition performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 19:1, 380–396, [10.1080/15502783.2022.2099231](https://doi.org/10.1080/15502783.2022.2099231)
- Štangar, M. 2024. *Tehnologija izdelave liofilizirane ovčje albuminske skute ter njena uporabnost v prehrani športnikov in gastronomiji*, magistrsko delo. Ljubljana: 44, <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=155894&lang=slv>
- Slanovec T. 1982. *Sirarstvo*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 175
- Zavod seneno meso in mleko. <https://seneno.si/o-zavodu/>
- Zannini E., Sahin A. W., Arendt E. K. 2022. Resistant protein: Forms and functions. *Foods*, 11(18), [10.3390/foods11182759](https://doi.org/10.3390/foods11182759)

Prispevek je močno skrajšana verzija istonaslovne mag. naloge.

PRIMERJAVA TRADICIONALNIH ČEVAPČIČEV S HIBRIDNIMI MESNIMI PRIPRAVKI

Nikita TRČEK¹ in Lea DEMŠAR²

Povzetek: Namen magistrske naloge je bil preveriti uporabo tradicionalnih dodatkov (soda) in novejših možnosti za izdelavo hibridnih mesnih pripravkov ter ugotoviti razlike v tvorbi heterocikličnih aminov med pečenjem na žaru in praženjem v ponvi. Poleg kontrolnih čevapčičev smo izdelali še štiri formulacije mesnih pripravkov v treh ponovitvah, ki so vključevale sestavine, kot so soda, fosfati, čičerika in čičerika/fosfat. Govedino, svinjino in slanino smo zmleli ločeno, pripravili začimbni poparek in emulziji iz čičerikine moke, vode, maščobnega tkiva in fosfatov. V surovih masah smo analizirali kemijsko sestavo, barvne vrednosti in teksturo ter iz preostale mase izdelali čevapčiče. Po toplotni obdelavi smo izmerili izgubo mase, spremembe dimenzije, reološke parametre, ocenili senzorične lastnosti in določili vsebnost heterocikličnih aminov. Ugotovili smo, da je izbira sestavin in njihovega razmerja (80 % mesnih surovin : 10 % čičerikine moke) primerna za izdelavo hibridnih mesnih pripravkov. Dodatki so značilno vplivali na sestavo in lastnosti pripravkov, pri čemer so skupine s čičeriko pokazale najmanjšo vsebnost beljakovin. Senzorična analiza je izpostavila prednosti in slabosti posameznih dodatkov, pri čemer je skupina s sodo izstopala kot najbolj ocenjena, skupini s čičeriko in čičerika/fosfat pa kot najslabši zaradi drobljivosti, slabe arome in skupnega vtisa. Različni načini toplotne obdelave so različno vplivali na teksturo in senzorične lastnosti, nismo pa jasno dokazali, kateri način je bolj primeren z vidika tvorbe heterocikličnih aminov. Kljub temu so pridobljeni rezultati pomembni za razumevanje parametrov, ki vplivajo na kakovost in sestavo hibridnih mesnih pripravkov s čičeriko.

Ključne besede: čevapčiči, mesni pripravki, hibridni mesni pripravki, fosfatni preparat, čičerika

COMPARISON OF TRADITIONAL ČEVAPČIČI WITH HYBRID MEAT PREPARATION

Abstract: The aim of the master's thesis was to investigate the use of traditional additives and newer options for the production of hybrid meat products (čevapčiči) and to determine differences in the formation of heterocyclic amines between two dry heat treatment methods: grilling and pan frying. In addition to control (traditional) čevapčiči, four formulations were created in three production repeats, incorporating various ingredients such as soda, phosphate mix, chickpea, and chickpea/phosphate mix. Beef, pork, and fat were ground separately, and spice infusions and emulsions were prepared from chickpea flour, water, fat tissue, and phosphate mix. The formed raw masses were examined for their chemical composition, colour values, and texture, then cylindrical samples were produced. Mass losses during heat treatment, dimensional changes, and rheological parameters were measured, sensory properties were evaluated, and the HCA content was determined. It was found that the choice of ingredients and their ratio (80% meat ingredients: 10% chickpea flour in the form of emulsions) and the chosen method for producing hybrid meat products proved to be suitable. The addition of different ingredients significantly affected the composition and properties of the products, with the chickpea groups having a lower protein content and a higher water/protein ratio. The sensory evaluation highlighted the strengths and weaknesses of each ingredient, with the soda group receiving the most positive rating and the chickpea and chickpea/phosphate groups receiving the worst rating in terms of crumbliness, aroma, and overall impression. The different heat treatment methods had varying effects on texture and sensory properties, but no clear conclusion could be drawn as to which method was better in terms of heterocyclic amine formation. Nevertheless, the results obtained are important for understanding the parameters that influence the quality and composition of chickpea hybrid meat products.

Keywords: čevapčiči, meat preparation, hybrid meat preparations, phosphate preparation, chickpea

¹ mag. inž. živil., e-mail: avtor1@bf.uni-lj.si

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

1 UVOD

Današnji potrošniki cenijo tradicionalne, lokalne, zaupanja vredne in okolju prijazne izdelke. Zaradi trajnosti, zdravja in dobrega počutja se med potrošniki povečuje zanimanje za razvoj fleksibilnih prehranjevalnih navad, ki vključujejo več rastlinskih živil. V tem kontekstu na trg vstopajo inovativni mesni nadomestki, kot so rastlinski mesni nadomestki, "gojeno meso", insekti itd., ter hibridni mesni izdelki (nadomestki mesa), ki so narejeni s kombiniranjem rastlinskih in živalskih sestavin v različnih razmerjih. Ti izdelki predstavljajo alternativo tradicionalnim mesnim izdelkom, saj združujejo znan okus in teksturo mesa s prehranskimi koristmi rastlinskih živil (Grasso in Goksen, 2023; Meiselman in sod., 2023). Če želimo proizvajati sodobne hibridne izdelke na osnovi tradicionalnih izdelkov, moramo najprej raziskati surovine, dodatke in proizvodne tehnike ter opredeliti senzorične lastnosti tradicionalnih mesnih izdelkov. Med drugim je treba preučiti preudarno uporabo nekaterih običajnih dodatkov (količina soli, dodatek fosfatov in sode bikarbone) ter raziskati nove načine za razvoj strukturno stabilnega mesnega hibrida z dodatkom rastlinske komponente (npr. moka stročnic). Kot tradicionalni izdelek so bili izbrani čevapčiči, saj so zelo priljubljen izdelek za žar v balkanskih državah. Čevapčiči se proizvajajo na podoben način, vendar iz različnih surovin, izključno iz govejega mesa z veliko količino loja (pleče, vrat in trebuh) ali iz mešanice govejega in svinjskega mesa, v nekaterih primerih tudi iz jagnjetine. Običajne soli (natrijev klorid) se običajno doda 2 % (Lilic in sod., 2014). Po drugi strani pa so toplotno obdelani čevapčiči lahko vir škodljivih heterocikličnih aminov, od katerih so nekateri znani bakterijski mutageni in potencialni človeški rakotvorni snovi, ki nastanejo med toplotno pripravo živil, bogatih z beljakovinami. Njihova tvorba je odvisna predvsem od trajanja in temperature toplotne obdelave (Ristic in sod., 2004).

Cilj naloge je bil preveriti uporabo tradicionalnih dodatkov in novejših metod za proizvodnjo čevapčičev, kot so uporaba natrijevega bikarbonata (pomaga povečati koncentracijo topnih beljakovin v slanici in zmanjša mobilnost vode, Kang in sod., 2023), fosfata in čičerikine moke.

Naslednji cilj je bil tudi natančno oceniti spremenljivke, kot so vsebnost hranil, izgube med toplotno obdelavo, merjenje premera in količine izločene tekočine po toplotni obdelavi, merjenje barve in teksture ter oceniti senzorične lastnosti hibridnih čevapčičev z dodano čičerikino moko in jih primerjati s kontrolno skupino – klasičnimi čevapčiči. Proučili smo tudi razlike med tradicionalnimi čevapčiči in hibridnimi mesnimi izdelki glede obsega tvorbe heterocikličnih aminov med suho toplotno obdelavo, tj. med praženjem v ponvi in pečenjem na žaru z dvojno ploščo.

2 MATERIAL IN METODE

Izdelali smo tri proizvodne ponovitve različno formuliranih mas za čevapčiče (5). Formulacije za pripravo 1 kg mase za čevapčiče iz govejega in prašičjega mesa (15-20 % mastnega tkiva), so vključevale dodatek fosfatnega preparata, sode in čičerikine moke oziroma brez omenjenih dodatkov: kontrola (kontrola) brez sode, fosfatnega preparata ali čičerikine moke, dodatek fosfatnega preparata (+fosfat; fosfatni preparat Aroma Univerzal K (Prava Aroma; dekstroza : (fosfati (E 450 (difosfat), E 451 (trifosfat)): antioksidant natrijev eritorbat (E 316) = 355 g : 300 g : 45 g), dodatek sode (+soda), dodatek čičerikine moke (+čičerika) ter dodatek čičerikine moke in fosfatnega preparata (+čičerika/fosfat).

Meso, loj in slanino smo odmrznili (18 h, 4 °C) in vsakega posebej zmleli na volku (luknjača 5 mm). Pripravili smo poparek začimb v slani vodi: v odmerjeni količini vode (10 % glede na maso) smo prekuhali začimbe, poper (0,25 %), sol (1,5 %) in granulat česna (0,8 %). Pripravili smo emulzijo čičerikine moke, vode, mastnega tkiva in fosfatnega preparata (skupina +čičerika/fosfat): čičerikino moko smo 30 s mešali s hladno destilirano vodo v razmerju (1 g moke/1 ml vode) in fosfatnim preparatom, po desetih minutah rehidracije smo dodali slanino in loj ter homogenizirali še 1,5 minute. V primeru izdelave emulzije čičerikine moke, vode in mastnega tkiva (skupina +čičerika), smo dodatek fosfatnega preparata izpustili. Del oblikovane mase smo takoj uporabili za analizo kemijske sestave. Ostalo maso smo prenesli v vrečke, jih vakuumirali in po 18 h urah v hladilniku pri temperaturi 2 ± 1 °C iz njih oblikovali cilindrične vzorce/ čevapčiče z dresirno vrečko (6,5 cm, premer 2 cm).

Na vzorcih petih eksperimentalnih skupin čevapčičev (5 formulacij $\times$ 3 proizvodne ponovitve) smo opravili naslednje analize: določanje vsebnost vode, beljakovin in maščobe (NIR) ter določanje barvnih vrednosti (L^* , a^* in b^*) na presni masi in teksture (Warner-Bratzlerjeva strižna sila, Lušnic Polak in sod., 2023) na oblikovanih vzorcih, izgube med toplotno obdelavo, zmanjšanje premera in dolžine, reoloških parametrov (toplotno obdelanih vzorcev, ohlajenih na sobno temperaturo, analiza profila teksture; Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, Velika Britanija), vrednotenje senzoričnih lastnosti (kvantitativna deskriptivna analiza izraženosti lastnosti (Golob in sod., 2005; Sok, 2008)) in določanje vsebnosti heterocikličnih aminov (LC-MS/MS, Polak in sod., 2008) po toplotni obdelavi na dvoploščnem žaru in na ponvi do središčne temperature 70 °C. Rezultati so bili statistično obdelani z ANOVO in Duncanovim testom (SPSS, verzija 22.0, SPSS Inc., Chicago, ZDA).

3 REZULTATI

Na podlagi pridobljenih rezultatov smo ugotovili, da se je izbira sestavin in njihovega razmerja (80 % mesnih surovin : 10 % čičerikine moke v obliki emulzij), skupaj z uporabljenim postopkom za izdelavo hibridnih mesnih pripravkov, izkazala kot primerna.

Dodatki različnih sestavin (sode, fosfatov, čičerike in čičerike s sočasn timer dodatkom fosfata) so pomembno vplivali na sestavo pripravkov, pri čemer so skupine s čičeriko pokazale nižjo vsebnost beljakovin. Skupini +čičerika in +čičerika/fosfat sta bili najsvetlejši (visoka vrednost L^*) in najbolj intenzivni (nižja vrednost a^* in visoka vrednost b^*). Na svetlejšo barvo vpliva predvsem za čičeriko značilna rumenkasta barva. To sklepamo na podlagi ugotovitev raziskovalcev, da vsebnost mioglobina v formulacijah in intrinzična barva rastlinske beljakovine prispevata k obarvanju hibridnih mesnih emulzij in posledično razlikovanju barve hibridnih mesnih pripravkov v primerjavi s tradicionalnimi mesnimi pripravki (Santos in sod., 2022). Dodatki različnih sestavin niso vplivali na teksturo presnih vzorcev (Warner-Bratzlerjevo strižno silo), kar je še posebej pomembno pri industrijski izdelavi (Preglednica 1).

Dodatki različnih sestavin so značilno vplivali na izgubo mase med toplotno obdelavo (TO), izstopali sta skupini +čičerika/fosfat in +čičerika, kjer je bila izguba najmanjša, največja pa pri kontrolni skupini, ne glede na način TO. To je v skladu z ugotovitvijo Bessada in sod., (2019), da imajo stročnice imajo dobre funkcionalne lastnosti kot so absorpcija vode in maščobe, pa tudi topnost, emulgirajoča aktivnost in sposobnost penjenja. Vsebnost vlaknin, škroba in beljakovin v stročnicah pa omogoča tvorbo kompleksne gelske mreže z mesnimi beljakovinami (Shevkani in sod., 2019). V oblikovane mreže se lahko zamrežijo voda ter druge spojine, kar izboljša njihovo vezavo v mesu med različnimi postopki predelave (Anzani in sod., 2020). Dodatki različnih sestavin so značilno vplivali tudi na dolžino in premer po TO, najdaljši so bili vzorci skupine +čičerika/fosfat. Način TO je značilno vplival na dolžino in premer vzorcev pri kontrolni skupini in skupini +čičerika (Preglednica 1).

Teksturni parametri toplotno obdelanih vzorcev so bili odvisni od dodanih sestavin, izstopali sta skupini +soda, ki je bila v primerjavi s kontrolno trša (samo po praženju), prožnejša, bolj kohezivna, žvečljiva in elastična, in skupina +čičerika, ki je bila podobno trda kot kontrolna, bolj prožna po pečenju, manj kohezivna, žvečljiva in elastična. Dodatek čičerike spremeni teksturo, ker voda deluje kot plastifikator, mesni izdelki z veliko izgubo vode tako postanejo bolj trdi (Andres in sod., 2006). V našem poskusu je za vzorce, kjer je bila dodana čičerika značilna manjša izguba vode, kar posledično pomeni manjšo trdoto. Z dodatkom čičerike pa se je posledično povečala tudi vsebnost ogljikovih hidratov v vzorcu, ti pa ovirajo interakcije med beljakovinami in povzročijo šibko beljakovinsko mrežo (Leonard in sod., 2019). Način TO je značilno vplival na trdoto in žvečljivost vseh skupin z izjemo +čičerika/fosfat (Preglednica 1).

Eden od ciljev študije je bil tudi ugotoviti razlike v tvorbi HCA med dvema postopkoma suhe toplotne obdelave (pečenje na žaru in praženje v ponvi). Ugotovili smo, da so dodatki različnih sestavin značilno vplivali na skupno vsebnost heterocikličnih aminov (HCA). Tako je največ HCA vsebovala skupina +čičerika/fosfat, več po praženju na ponvi kot po pečenju na žaru, v ostalih skupinah je bila vsebnost HCA za več kot polovico manjša (Preglednica 1). V hibridnih pripravkih +čičerika smo pričakovali najmanjšo tvorbo heterocikličnih aminov zaradi manjše izgube mase med toplotno obdelavo (Khan in sod., 2022), manjše vsebnosti maščob (Gibis, 2016) in nastajanje

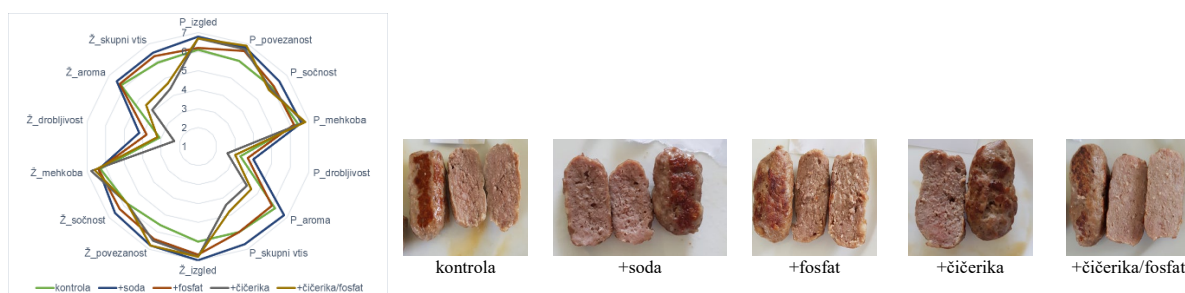
prostih radikalov v procesu toplotno povzročene oksidacije maščob, ki bi lahko močno olajšali nastanek PhIP (Zamora in sod., 2012).

Preglednica 1: Razlike v fizikalno-kemijskih parametrih različno toplotno obdelanih čevapčičev/hibridnih mesnih pripravkov iz različnih eksperimentalnih skupin (Duncanov test, $\alpha \leq 0,05$)

Parameter	Vrednost parametra glede na eksperimentalno skupino (povprečje $\pm$ so)				
	kontrola	+soda	+fosfat	+čičerika	+čičerika/fosfat
beljakovine (g/100 g)	19,76 $\pm$ 0,21 ^a	19,23 $\pm$ 0,28 ^b	19,18 $\pm$ 0,31 ^b	17,72 $\pm$ 0,14 ^c	17,67 $\pm$ 0,21 ^c
maščoba (g/100 g)	8,57 $\pm$ 0,61	8,93 $\pm$ 1,06	9,01 $\pm$ 0,86	8,19 $\pm$ 0,75	7,61 $\pm$ 1,01
voda (g/100 g)	69,52 $\pm$ 0,52 ^a	69,01 $\pm$ 0,45 ^a	68,83 $\pm$ 0,35 ^a	66,71 $\pm$ 0,64 ^b	66,89 $\pm$ 0,52 ^b
vrednost L^*	47,22 $\pm$ 2,06 ^b	46,20 $\pm$ 2,65 ^b	46,60 $\pm$ 2,07 ^b	53,35 $\pm$ 1,66 ^a	52,78 $\pm$ 1,33 ^a
vrednost a^*	15,98 $\pm$ 1,63 ^a	15,17 $\pm$ 1,40 ^b	16,13 $\pm$ 1,34 ^a	11,18 $\pm$ 1,35 ^d	12,35 $\pm$ 0,96 ^c
vrednost b^*	10,48 $\pm$ 0,86 ^d	10,79 $\pm$ 0,90 ^{cd}	10,97 $\pm$ 0,67 ^c	13,35 $\pm$ 0,71 ^b	14,12 $\pm$ 0,96 ^a
WBSF _{surovi} (N)	12,40 $\pm$ 3,39	11,45 $\pm$ 1,95	10,88 $\pm$ 1,79	12,07 $\pm$ 2,44	13,44 $\pm$ 3,37
IM med TO (%)	P 20,06 $\pm$ 2,62 ^{abB}	17,61 $\pm$ 3,15 ^{bc}	21,10 $\pm$ 3,53 ^a	16,37 $\pm$ 3,17 ^{cd}	14,42 $\pm$ 2,57 ^d
	Ž 26,31 $\pm$ 3,45 ^{aA}	17,06 $\pm$ 3,77 ^c	21,38 $\pm$ 5,68 ^b	14,03 $\pm$ 2,59 ^{cd}	11,28 $\pm$ 4,68 ^d
sprememba 2r (%)	P -2,10 $\pm$ 3,82 ^{bB}	4,16 $\pm$ 6,54 ^a	4,02 $\pm$ 4,44 ^a	0,05 $\pm$ 4,17 ^{bB}	3,21 $\pm$ 6,00 ^a
	Ž 1,05 $\pm$ 3,28 ^{cA}	4,67 $\pm$ 4,69 ^b	3,94 $\pm$ 3,87 ^{bc}	10,30 $\pm$ 3,43 ^{aA}	4,93 $\pm$ 2,37 ^b
zmanjšanje l (%)	P 19,05 $\pm$ 3,50 ^{aB}	21,39 $\pm$ 2,71 ^a	21,08 $\pm$ 2,33 ^a	20,37 $\pm$ 2,17 ^{aA}	15,18 $\pm$ 3,16 ^b
	Ž 22,98 $\pm$ 2,61 ^{aA}	19,34 $\pm$ 4,62 ^b	19,88 $\pm$ 3,11 ^b	18,28 $\pm$ 2,16 ^{bcB}	15,93 $\pm$ 2,65 ^c
trdota (N)	P 104,72 $\pm$ 15,1 ^{cdB}	118,36 $\pm$ 14,5 ^{bcB}	126,78 $\pm$ 10,3 ^{bB}	93,10 $\pm$ 16,55 ^{dB}	143,28 $\pm$ 24,06 ^{aB}
	Ž 127,54 $\pm$ 13,7 ^{bcA}	134,90 $\pm$ 11,2 ^{bA}	157,57 $\pm$ 11,9 ^{aA}	117,58 $\pm$ 21,4 ^{cA}	164,75 $\pm$ 11,6 ^{aA}
prožnost	P 0,83 $\pm$ 0,08 ^{bc}	0,90 $\pm$ 0,01 ^a	0,87 $\pm$ 0,01 ^{abB}	0,78 $\pm$ 0,11 ^c	0,83 $\pm$ 0,06 ^{bcB}
	Ž 0,88 $\pm$ 0,01 ^a	0,91 $\pm$ 0,02 ^a	0,89 $\pm$ 0,01 ^{aA}	0,82 $\pm$ 0,10 ^b	0,87 $\pm$ 0,01 ^{aA}
kohezivnost	P 0,59 $\pm$ 0,04 ^b	0,65 $\pm$ 0,02 ^a	0,62 $\pm$ 0,02 ^{bA}	0,53 $\pm$ 0,05 ^c	0,59 $\pm$ 0,03 ^{bA}
	Ž 0,57 $\pm$ 0,02 ^c	0,65 $\pm$ 0,02 ^a	0,59 $\pm$ 0,03 ^{bB}	0,51 $\pm$ 0,04 ^c	0,54 $\pm$ 0,02 ^{dB}
žvečljivost (N)	P 51,92 $\pm$ 8,77 ^{bB}	70,18 $\pm$ 8,69 ^{aB}	69,87 $\pm$ 6,31 ^{aB}	39,31 $\pm$ 9,03 ^{cB}	71,42 $\pm$ 14,59 ^a
	Ž 64,20 $\pm$ 6,73 ^{bA}	80,06 $\pm$ 6,35 ^{aA}	84,40 $\pm$ 8,91 ^{aA}	49,69 $\pm$ 12,28 ^{cA}	79,58 $\pm$ 5,76 ^a
elastičnost	P 0,25 $\pm$ 0,03 ^c	0,30 $\pm$ 0,01 ^a	0,28 $\pm$ 0,02 ^{bA}	0,22 $\pm$ 0,03 ^d	0,26 $\pm$ 0,02 ^{cA}
	Ž 0,24 $\pm$ 0,01 ^c	0,30 $\pm$ 0,01 ^a	0,26 $\pm$ 0,02 ^{bB}	0,21 $\pm$ 0,03 ^d	0,24 $\pm$ 0,01 ^{cB}
vsota HCA (μ g/kg)	P 72,73 $\pm$ 9,56 ^b	60,49 $\pm$ 29,62 ^{Bb}	78,32 $\pm$ 23,62 ^b	65,81 $\pm$ 26,13 ^{Bb}	239,90 $\pm$ 67,14 ^{Aa}
	Ž 56,34 $\pm$ 13,46 ^b	89,74 $\pm$ 11,43 ^{Ab}	69,54 $\pm$ 38,94 ^b	71,28 $\pm$ 9,18 ^{Ab}	145,99 $\pm$ 45,21 ^{Ba}

so, standardni odklon; TO, toplotna obdelava; WBSF, Warner Bartzler strižna sila; I, izguba mase; 2r, premer; l, dolžina; P, praženo na ponvi; Ž, pečeno na dvoploščnem žaru; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj parametra (a-d) se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$, razlike med eksperimentalnimi skupinami), vrednosti z različno nadpisano črko znotraj parametra (A-B) se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$, razlike med postopki TO)

Senzorične ocene so izpostavile prednosti in slabosti posameznih dodatkov, pri čemer je skupina s sodo izstopala kot najboljše ocenjena, skupina +fosfat je bila v primerjavi s kontrolno ocenjena kot boljše povezana in manj drobljiva, vzorci pečeni na žaru pa še boljši v izgledu, sočnosti in skupnem vtisu, skupina +čičerika (z ali brez fosfata) je bila v primerjavi s kontrolno ocenjena kot boljša v izgledu, povezanosti in mehkoobi ter slabša v drobljivosti, aromi in skupnem vtisu (Slika 1). Ugotovitve v našem poskusu so v skladu z ugotovitvami Kanga in sod., (2021), da dodatek sode, natrijevega bikarbonata, vpliva na sposobnost za vezanje vode v mesu, poviša vrednost pH, izboljša topnost miofibrilarnih beljakovin in izkoristek po toplotni obdelavi. Pogosto se namensko uporablja za izboljšanje mehkoobe, povečanje izkoristka med toplotno obdelavo in za prekrivanje netipičnih arom v mesu (Åslin in Mørkøre, 2012). Način TO je značilno vplival le na nekatere lastnosti: skupini +soda in +fosfat sta bili lepši po izgledu, skupina +fosfat bolj sočna, slabše arome in z boljšim skupnim vtisom po pečenju na žaru v primerjavi po praženju na ponvi.



Slika 1: Razlike v senzoričnih lastnostih različno toplotno obdelanih (levo) in prerez pečenih (desno) čevapčičev/hibridnih mesnih pripravkov

Različni načini toplotne obdelave so različno vplivali na teksturo in senzorične lastnosti (Preglednica 1), nismo pa jasno dokazali, kateri način je bolj ustrezen z vidika tvorbe heterocikličnih aminov. Kljub temu so pridobljeni rezultati pomembni za razumevanje parametrov, ki vplivajo na kakovost in sestavo hibridnih mesnih pripravkov s čičeriko.

4 ZAKLJUČEK

Hibridni mesni pripravki/čevapčiči so inovativna in potencialna rešitev pri zmanjševanju uživanja mesa in posledično vključevanja trajnosti v naše prehranjevalne navade. Vsekakor se tradicionalni mesni pripravek ne more primerjati s hibridnim mesnim pripravkom, predvsem v kontekstu senzorične analize. Nekatere druge analize so pokazale potencial v teksturi, mehkobi, manjših izgubah med toplotno obdelavo, a na koncu je potrošniku najbolj pomemben videz in okus izdelka. Z vidika tvorbe HCA se je kombinacija hibridnega mesnega izdelka z dodatkom čičerike/fosfat izkazalo kot najmanj ugodno z vidika zdravja, saj je bilo zaznati največjo tvorbo le-teh. Kljub temu pa so se hibridni mesni pripravki pokazali kot obetavno živilo, na katerem pa bo v prihodnje potrebno še izboljševanje in študiranje, kako tak izdelek čim bolj približati potrošniku in ga ustrezno predstaviti kot alternativa »tradicionalnim« čevapčičem.

5 VIRI

- Andrés S. C., García M. E., Zaritzky N. E., Califano A. N. 2006. Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 72, 311-319
- Anzani C., Boukid F., Drummond L., Mullen A. M., Álvarez C. 2020. Optimising the use of proteins from rich meat co-products and non-meat alternatives: nutritional, technological and allergenicity challenges. *Food Research International*, 137: 109575.
- Åsli M., Mørkøre T. 2012. Brines added sodium bicarbonate improve liquid retention and sensory attributes of lightly salted atlantic cod. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 1: 196-202
- Bessada M. F., Barreira J. C. M., Oliveira M. B. P. P. 2019. Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 93: 53-68
- Gibis M. 2016. Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: Causes, formation, occurrence, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15: 269-302.
- Golob T., Jamnik M., Bertonec J., Doberšek U. 2005. Senzorična analiza: metode in preskuševalci. *Acta agriculturae Slovenica*, 85-1: 55-66
- Grasso S., Goksen G. 2023. The best of both worlds? Challenges and opportunities in the development of hybrid meat products from the last 3 years. *LWT – Food Science and Technology*, 173: 114235.
- Kang Z. L., Kong L.H., Hu Z.-L., Li Y.P., Ma H.-J. 2023. Effect of sodium bicarbonate and sodium chloride on protein conformation and gel properties of pork myofibrillar protein. *Arabian Journal of Chemistry*, 16, 104574
- Kang Z. L., Zhang X. H., Li K., Li Y. P., Lu F., Ma H. J., Song Z. J., Zhao S. M., Zhu M. M. 2021. Effects of sodium bicarbonate on the gel properties, water distribution and mobility of low-salt pork batters. *LWT-Food Science and Technology*, 139: 110567.
- Khan I.A., Khan A., Zou Y, Zongshuai Z., Xu W., Wang D., Huang M. 2022. Heterocyclic amines in cooked meat products, shortcomings during evaluation, factors influencing formation, risk assessment and mitigation strategies. *Meat Science*, 184: 108693.

- Leonard W., Hutchings S. C. Warner R. D., Fang Z. 2019. Effects of incorporating roasted lupin (*Lupinus Angustifolius*) flour on the physicochemical and sensory attributes of beef sausage. *International Journal of Food Science & Technology*, 54, 5: 1849-1857
- Lilic S., Brankovic I., Pavlovic M., Borovic B., Raseta M., Spalevic Lj., Maslic-Strizak D. 2014. Sensory properties of cevapcici produced with various chloride salts. *Proceeding of II International Congress „Food Technology, Quality and Safety“*: 385–90
- Lušnic Polak M., Kuhar M., Zahija Jazbec I., Demšar L., Polak T. 2023. Oxidative stability and quality parameters of veal during ageing. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(1): 24-31.
- Meiselman H. L., Lorenzo J. M. 2023. Introduction: general overview of meat analogues and meat replacers. V: *Meat and meat replacements*. Meiselman H. L., Lorenzo J. M. (Ur.). Woodhead Publishing Cambridge.
- Polak T., Došler D., Žlender B., Demšar L. 2008. Heterocyclic amines in aged and thermally treated pork longissimus dorsi muscle of normal and PSE quality. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 504–513
- Ristic A., Cichna M., Sontag G. 2004. Determination of less polar heterocyclic aromatic amines in standardized beef extracts and cooked meat consumed in Austria by liquid chromatography and fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 802, 87-94
- Santos M. d., Rocha D. A. V. F. d., Bernardinelli O. D., Oliveira Júnior, F.D, de Sousa D. G., Sabadini E., da Cunha R. L., Trindade M. A., Pollonio M. A. R. 2022. Understanding the Performance of Plant Protein Concentrates as Partial Meat Substitutes in Hybrid Meat Emulsions. *Foods*, 11, 21: 3311
- Shevkani K., Singh N., Chen Y., Kaur A., Yu L. 2019. Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science Technology*, 54: 858-870
- Sok G. 2018. Vpliv načina izdelave govejih burgerjev na njihove fizikalno-kemijske parametre in senzorične lastnosti. Magistrsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: 49 str.
- Zamora R., Alcon E., Hidalgo F. J. 2012. Effect of lipid oxidation products on the formation of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in model systems. *Food Chemistry*, 135: 2569-2574.

ZAKLJUČNI PISNI IZDELKI NA ODDELKU ZA ŽIVILSTVO S PODROČJA ŽIVILSTVA IN PREHRANE V LETIH 2022 – 2024

Lina BURKAN MAKIVIĆ¹

Povzetek: Prispevek predstavlja kronološko urejen pregled zaključenih magistrskih del ter abecedni seznam doktorskih disertacij s področja živilstva in prehrane na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani v letih 2022-2024. Pri vseh delih so navedene tudi povezave do celotnega besedila, shranjenega v Repozitoriju Univerze v Ljubljani (RUL). S spremembo statuta Univerze v Ljubljani v letu 2022 je bila na Biotehniški fakulteti ukinjena oddaja tiskanih izvodov zaključnih del, tako je sedaj na voljo le elektronska verzija, shranjena v RUL. V prvem delu sta predstavljeni dve preglednici z osnovnimi podatki o zaključenih magistrskih delih magistrskega študija 2. stopnje Prehrana in magistrskega študija 2. stopnje Živilstvo. Vsaka preglednica vključuje podatke o avtorju, naslovu dela, mentorju, morebitnem somentorju, letu zagovora, zaporedni številki zaključnega dela ter povezavi do celotnega besedila v RUL. Na Biotehniški fakulteti je v letih 2022-2024 magistrski študij 2. stopnje Prehrana zaključilo 66 študentov, medtem ko je magistrski študij 2. stopnje Živilstvo zaključilo 75 študentov. Drugi del prispevka vsebuje bibliografske opise 13 doktorskih disertacij Interdisciplinarnega študija Bioznanosti, znanstveni področji prehrana (8) in živilstvo (5) v letih 2022-2024, s ključnimi besedami, izvečkom ter povezavo do celotnega besedila v RUL. Zbrano gradivo nudi vpogled v aktualne raziskovalne usmeritve na področju živilstva in prehrane na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete.

Ključne besede: magistrska dela, doktorske disertacije, živilstvo, prehrana, Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta

FINAL WRITTEN WORKS AT THE DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE IN THE FIELD OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION IN THE YEARS 2022–2024

Abstract: This contribution presents a chronologically ordered overview of completed master's theses and an alphabetical list of doctoral dissertations in the field of food science and nutrition at the Department of Food Science, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, in the years 2022–2024. All works include links to the full texts stored in the University of Ljubljana Repository (RUL). With the amendment of the University of Ljubljana Statute in 2022, the submission of printed copies of final theses was discontinued at the Biotechnical Faculty. Now, only the electronic version, stored in the University of Ljubljana Repository (RUL), is available. The first part includes two tables with basic data on the master's theses of the Master Study Programme in Nutrition and Master Study Programme in Food Science, including the author, title of the thesis, supervisor, co-advisor (if applicable), year of defense, number of the final work, and a direct link to the full text in RUL. During the observed period, the second-cycle Master Study Programme in Nutrition was completed by 66 students, and Master Study Programme in Food Science was completed by 75 students. The second part of the contribution contains bibliographic descriptions of 13 doctoral dissertations from the Interdisciplinary doctoral study program Biosciences, scientific fields Nutrition (8) and Food Science (5), in the years 2022–2024. Each entry includes keywords, an abstract, and a direct link to the full text in RUL. The collected material provides a comprehensive insight into current research directions in the fields of food science and nutrition at the Department of Food Science, Biotechnical Faculty.

Keywords: master theses, doctoral dissertations, food science, nutrition, Department of Food Science, Biotechnical Faculty

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

Preglednica 1: Kronološki seznam magistrskih del magistrskega študijskega programa 2. stopnje Prehrana v letih 2022-2024

Avtor	Naslov	Mentor / somentor	Leto	Zap. št.	URL
Zupanc, Sendy	Vrednotenje učinkovitosti ekstrakcije pigmentov iz liofiliziranih živil rastlinskega izvora z bioobnovljivim topilom Cyrene	Cigić, Blaž / Polak, Tomaž	2022	116	RUL
Baričević, Filip	Prehransko vedenje bolnikov z multiplo sklerozo	Kostanjevec, Stojan	2022	117	RUL
Jeseničnik, Janja	Obogatitev belega pšeničnega kruha s prehransko vlaknino	Bertoncelj, Jasna / Požrl, Tomaž	2022	118	RUL
Matić, Kristina	Izraba odpadne kisle sirotke za gojenje propionibakterij, ki proizvajajo vitamin B12	Bogovič Matijašič, Bojana / Roškar, Robert	2022	119	RUL
Štravs, Ana	Antioksidativno delovanje in inhibicija alfa-amilaze z ekstrakti bukovega ostrigarja (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	Pogačnik da Silva, Lea / Jamnik, Polona	2022	120	RUL
Kovačič, Sara	Povezava med maščobno kislinsko sestavo humanega mleka in rastjo ter telesno sestavo otrok iz študije Moje-mleko	Rogelj, Irena / Benedik, Evgen	2022	121	RUL
Kogovšek, Melita	Hranilna vrednost mikroalg vrste <i>Arthrospira platensis</i> in <i>Chlorella vulgaris</i> po mlečnokislinski fermentaciji	Korošec, Mojca/ Vidrih, Rajko	2022	122	RUL
Kranjc, Kaja	Vpliv antropometričnih lastnosti matere in novorojenčka na sestavo makrohranil humanega mleka	Benedik, Evgen / Perme, Tina	2022	123	RUL
Drašler, Varineja	Sprememba prehranjevalnih navad pri študentih in zaposlenih na Univerzi v Ljubljani med pandemijo covid-19 ter njihov odnos do študija na daljavo	Cigić, Blaž / Korošec, Mojca	2022	124	RUL
Krajnc, Maja	Vpliv nočnega dela na prehranske vzorce delavcev nujnih služb	Golja, Petra / Tomažič, Iztok	2022	125	RUL
Jesenko, Erika	Hranilna vrednost in senzorična sprejemljivost kosil in večerij v dijaškem domu v Ljubljani	Pajk Žontar, Tanja / Korošec, Mojca	2022	126	RUL
Kerbler, Eva	Primerjava dveh računalniških programov za ovrednotenje prehranskih dnevnikov	Fidler Mis, Nataša / Benedik, Evgen	2022	127	RUL
Molac, Elena	Povezava med senzorično sposobnostjo okušanja in intenzivnostjo zaznave osnovnih okusov	Korošec, Mojca	2022	128	RUL
Vide, Urša	Vpliv leptina in adiponektina v humanem mleku na telesno sestavo otrok	Benedik, Evgen / Ihan, Alojz	2022	129	RUL
Turnšek, Ivana	Znanje o prehrani pri trenerjih fitnesa in uporabnikih fitnes storitev	Pravst, Igor / Golja, Petra	2022	130	RUL
Krajnc, Lana	Prehransko vedenje starejših in možne prehranske intervencije	Kostanjevec, Stojan	2022	131	RUL
Primec, Jakob	Učinek sirupa s kvasnim pripravkom in vitaminom C na potek prehlada in gripe pri zdravih otrocih	Ihan, Alojz	2022	132	RUL
Sočič, Karolina	Vnos beljakovin z vegansko prehrano pri rekreativnih športnikih	Kreft, Marko	2022	133	RUL
Šetina, Urška	Vpliv seva <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938 na črevesno mikrobioto novorojenčkov, zdravljenih z antibiotiki	Rogelj, Irena	2022	134	RUL
Serdoz, Sara	Analiza prehranskega vnosa in prehranskega statusa dializnih bolnikov: od podhranjenosti do hiperfosfatemije	Knap, Bojan	2022	135	RUL
Sedlar, Monika	Uživanje sadja pri izbrani skupini rekreativnih športnikov	Usenik, Valentina / Čerňič Istenič, Majda	2022	136	RUL
Levec, Jana	Prehrana, sestava telesa in zmogljivost skupine profesionalnih nogometašev v Sloveniji	Knap, Bojan	2022	137	RUL
Gerbič, Ana Marija	Pretvorbe biogenih aminov in antioksidantov v Mohantu	Cigić, Blaž / Čanžek Majhenič, Andreja	2022	138	RUL
Fras, Neža	Uporaba kriterijev prehransko ustrežnejših izdelkov pri javnem naročanju živil v vzgojno-izobraževalnih zavodih v Sloveniji	Benedik, Evgen / Gregorič, Matej	2023	139	RUL
Frkal, Neja	Masnospektrometrična karakterizacija ekstraktov invazivnih dresnikov	Pogačnik da Silva, Lea / Kosjek, Tina	2023	140	RUL
Vesel, Simona	Vpliv ultrazvočne obdelave na izluževanje kalija iz živil namenjenih prehrani dializno odvisnih bolnikov	Korošec, Mojca/ Mlinšek, Gregor	2023	141	RUL
Šmid, Anja Neža	Sistematičen pregled vpliva uživanja prehranskih dopolnil na raven železa pri športnikih	Golja, Petra / Hadžić, Vedran	2023	142	RUL
Vraničar, Katja	Preoblikovanje biskvitov za izboljšanje hranilne sestave	Bertoncelj, Jasna	2023	143	RUL
Stropanik, Nina	Primerjava energijske porabe izmerjene z indirektno kalorimetrijo z dejanskim energijskim vnosom pri odpovedi prebavil tipa III	Rotovnik-Kozjek, Nada	2023	144	RUL
Kovačič, Blanka	Prehranske navade pri bolnikih po srčnem infarktu	Jug, Borut / Kreft, Marko	2023	145	RUL
Trontelj, Tina	Prisotnost genov za bakteriocine v mikrobioti humanega kolostruma	Bogovič Matijašič, Bojana	2023	146	RUL
Klemenc, Karmen	Vsebnost primarnih in sekundarnih produktov oksidacije ter vitamina E v prehranskih dopolnilih z omega 3 maščobnimi kislinami	Pajk Žontar, Tanja / Levart, Alenka	2023	147	RUL
Jurkovič, Lucija	Vpliv brezglutenske prehrane na zmogljivost športnikov	Benedik, Evgen / Rauter, Samo	2023	148	RUL

Avtor	Naslov	Mentor / somentor	Leto	Zap. št.	URL
Šaula, Tina	Vpliv fermentacije na prehransko vrednost mlevskih frakcij grahove moke	Cigić, Blaž / Jamnik, Polona	2023	149	RUL
Ožbolt, Petra	Antioksidativna učinkovitost in senzorična sprejemljivost ingverja (<i>Rhizoma zingiberis</i>) ter možnost uporabe v prehrani	Pogačnik da Silva, Lea / Bertoncelj, Jasna	2023	150	RUL
Klemenčič, Patricija	Vpliv različnih dejavnikov na sprejemanje odločitev otrok pri izbiri in nakupu živil	Kostanjevec, Stojan / Pajk Žontar, Tanja	2023	151	RUL
Levičnik, Ana	Ugotavljanje prisotnosti bakterij vrst <i>S. aureus</i> in <i>E. coli</i> v različnih fazah tehnološkega postopka pri izbranih mlečnih izdelkih	Čanžek Majhenič, Andreja	2023	152	RUL
Hribar, Maja	Vpliv prehranske intervencije na prehranski status skupine profesionalnih nogometašev v Sloveniji	Knap, Bojan / Pajk Žontar, Tanja	2023	153	RUL
Lukić, Anja	Povezave med kazalniki življenjskega sloga in uživanjem mleka in mlečnih izdelkov	Treven, Primož / Kastelec, Damijana	2023	154	RUL
Gumzej, Špela	Navade pitja tekočin pri slovenskih osnovnošolcih	Renner-Primec, Zvonka	2023	155	RUL
Peklaj, Sabina	Prehranska pismenost in všečnost šolskih obrokov pri učencih osnovne šole na Notranjskem	Korošec, Mojca	2023	156	RUL
Bremec, Neja	Vpliv mediteranske diete na serumske vrednosti kalija in fosforja pri bolnikih na peritonealni dializi	Knap, Bojan	2023	157	RUL
Hadalín, Sabina	Primerjava prehranjevalnih navad otrok in mladostnikov v Sloveniji in Vojvodini	Smole Možina, Sonja / Šereš, Zita	2024	158	RUL
Trampuš, Lana	Prehranski status pri ženskah v postopku zunajtelesne oploditve	Benedik, Evgen / Pinter, Bojana	2024	159	RUL
Okorn, Kaja	Vrednotenje šolskih kosil s spremljanjem ponujene in dejansko zaužite hrane	Bertoncelj, Jasna	2024	160	RUL
Nartnik, Sanja	Vrednotenje prehranskega profila živil za dojenčke in malčke	Pajk Žontar, Tanja / Gabrijelčič Blenkuš, Mojca	2024	161	RUL
Jeram, Sara	Ocena prehranskega statusa in telesne sestave mladih kolesarjev ter poskus njune optimizacije	Knap, Bojan / Podlogar, Tim	2024	162	RUL
Koroša, Vanja	Določanje mikrobnih združb na mikroplastiki v morski vodi in v školjkah	Klančnik, Anja / Kovač Viršek, Manca	2024	163	RUL
Hren, Neža	Vnos energije in makrohranil pri prebivalcih domov za starejše občane	Pravst, Igor / Lavriša, Živa	2024	164	RUL
Potrebuješ, Gregor	Prehranski status profesionalnih rokometashev iz dveh klubov	Rotovnik-Kozjek, Nada	2024	165	RUL
Sakal Dumić, Oktavija	Vpliv dodatka cvetnega prahu osmukanca na hranilno vrednost in senzorične lastnosti piškotov	Bertoncelj, Jasna	2024	166	RUL
Žnidaršič, Anita	Antioksidativna učinkovitost vrčevskih obrokov	Pogačnik da Silva, Lea	2024	167	RUL
Dolšak, Doroteja	Stanje prehranjenosti otrok s spinalno mišično atrofijo	Homan, Matjaž / Benedik, Evgen	2024	168	RUL
Zupančič, Hana	Prehranska sestava na Instagramu predstavljenih živil	Pravst, Igor / Korošec, Mojca	2024	169	RUL
Križnik, Nina	Preskrbljenost prebivalcev Slovenije z ustrezno zalogo hrane	Pajk Žontar, Tanja / Bertoncelj, Jasna	2024	170	RUL
Damjanović, Andrija	Hidrogeli na osnovi ciklodekstrina in izbranih polisaharidov	Osojnik Črnivec, Ilja Gasan / Poklar Ulrih,	2024	171	RUL
Javornik, Alja	Primerjava metod za ocenjevanje dnevnega vnosa soli	Korošec, Mojca/ Lušnic Polak,	2024	172	RUL
Kunstek, Patricija	Hidracija otrok s primarnimi glavoboli	Benedik, Evgen / Bizjak, Neli	2024	173	RUL
Poharc, Alja	Pojavnost motenj hranjenja pri udeleženkah programa Zdravo hujšanje v ZVC Šiška	Rotovnik-Kozjek, Nada / Kovač-Blaž, Milena	2024	174	RUL
Ivanc, Kaja	Ocena mikrobiološke varnosti in senzorične kakovosti žitnih izdelkov za zajtrk po preteku roka uporabnosti	Jeršek, Barbara / Korošec, Mojca	2024	175	RUL
Kralj, Suzana	Povezava med vedenjem o prehrani in prehranskim statusom študentov	Rotovnik-Kozjek, Nada	2024	176	RUL
Junkar, Tajda	Določanje encimske aktivnosti lipaz v ekstraktih semen in kalčkov pri različnih vrednostih pH in temperature	Poklar Ulrih, Nataša / Skrt, Mihaela	2024	177	RUL
Pungertnik, Alen	Določanje količine zaužitih živil z optično volumetrično analizo obroka	Prislan, Iztok / Milanič, Matija	2024	178	RUL
Goljuf, Špela	Vrednotenje prehranskih dopolnil v obliki šumečih tablet na slovenskem tržišču	Pravst, Igor	2024	179	RUL
Pajk, Kaja	Vpliv mediteranske diete na vnos prehranske vlaknine in serumske vrednosti uremičnih toksinov pri bolnikih na peritonealni dializi	Knap, Bojan	2024	180	RUL
Ježovnik, Lara	Vpliv prehranske intervencije na telesno sestavo vrhunskih odbojkarjev	Knap, Bojan	2024	181	RUL

Preglednica 2: Kronološki seznam magistrskih del magistrskega študijskega programa 2. stopnje Živilstvo v letih 2022-2024

Avtor	Naslov	Mentor / somentor	Leto	Zap. št.	URL
Terbuc, Tina	Vpliv različnih postopkov obdelave cvetnega prahu osmukanca na antioksidativni potencial	Abramovič, Helena	2022	157	RUL
Terčelj Schweizer, Tilen	Vpliv sestave vina na senzorično zaznavo	Košmerl, Tatjana	2022	158	RUL
Cerar, Rok	Vpliv različnih vrst medu na proizvodnjo medice	Košmerl, Tatjana	2022	159	RUL
Koçar, Monika	Študija povezav med proteolizo, oksidacijskimi produkti in teksturo Kraškega pršuta	Demšar, Lea	2022	160	RUL
Golob, Eva	Oksidacijska stabilnost piščančjega mesa pri različnih koncentracijah kisika v embalažni enoti	Demšar, Lea	2022	161	RUL
Bratkich, Kim	Fortification of yogurt with fruits of Hottentot-fig (<i>Carpobrotus edulis</i> L.)	Čanžek Majhenič, Andreja / Custódio, Luísa	2022	162	RUL
Recko, Kaira	Določanje fizikalno-kemijskih lastnosti različnih vrst medu, sirupov in njihovih mešanic	Korošec, Mojca / Prisljan, Iztok	2022	163	RUL
Janežič, Tanja	Kakovost mlečnih izdelkov malih proizvajalcev	Čanžek Majhenič, Andreja	2022	164	RUL
Kunšek, Nika	Flavonoidi v slovenskih sortah hmelja	Terpinc, Petra / Ocvirk, Miha	2022	165	RUL
Ozvatich, Manca	Strukturne lastnosti, kemijska sestava in prebavljivost kruha z dodano sojo	Cigić, Blaž / Polak, Tomaž	2022	166	RUL
Kozamernik, Mark	Učinek dodane transglutaminaze na izboljšanje lastnosti biskvita s sojino moko	Polak, Tomaž	2022	167	RUL
Levačić, Iva	Vpliv mikrookisgenacije in dodatka trsk iz hrastovega lesa na zorenje vina refošk	Košmerl, Tatjana	2022	168	RUL
Kopinšek, Mojca	Primerjava treh senzoričnih preskusov razlikovanja na primeru jabolčnega nektarja	Korošec, Mojca	2022	169	RUL
Trifunovska, Marija	Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from algae <i>Pelvetia canaliculata</i> from the Atlantic Ocean into sunflower oil	Vidrih, Rajko / Ferreira-Dias, Suzana	2022	170	RUL
Kumer, Urška	Priprava biskvitov z dodatkom prehranske vlaknine	Lušnic Polak, Mateja	2022	171	RUL
Tomšič, Barbara	Vpliv dodatka transglutaminaz na fizikalno-kemijske parametre in senzorične lastnosti govejih burgerjev	Demšar, Lea	2022	172	RUL
Kotnik, Vita	Uporaba hidrokoloidov pri pripravi brezglutenskih biskvitov	Lušnic Polak, Mateja	2022	173	RUL
Brdnik Benčan, Ana	Prisotnost genov za odpornost proti antibiotikom v vzorcih surovega mleka iz mlekomatov	Treven, Primož	2022	174	RUL
Pavlovič, Brina	Adhezija plesni vrste <i>Penicillium expansum</i>	Jeršek, Barbara	2022	175	RUL
Ožbold, Neža	Vpliv temperature in časa praženja na vsebnost akrilamida, različnih metilksantinov ter trigonelina v kavi	Polak, Tomaž	2022	176	RUL
Kuridža, Dijana	Spremembe antioksidativnih lastnosti ovsa med kaljenjem	Požrl, Tomaž	2022	177	RUL
Sinjur, Alenka	Gojenje kefirnega zrna v sirotki in odpornost izolatov iz kefirnega zrna proti antibiotikom	Čanžek Majhenič, Andreja	2022	178	RUL
Hrvatina, Eva	Vsebnost [gama]-amino butanojske kisline in aminov v procesu izdelave ribjih konzerv	Polak, Tomaž / Marin, Monika	2022	179	RUL
Glibota, Ana	Vpliv različnih postopkov priprave na nekatere prehransko pomembne komponente psevdžit	Terpinc, Petra / Bertonec, Jasna	2022	180	RUL
Trček, Sana	Parametri kakovosti olj grozdnih pešk	Vidrih, Rajko	2022	181	RUL
Jesenko Ploj, Patricija	Vpliv ne- <i>Saccharomyces</i> kvasovk na kakovost belih vin	Košmerl, Tatjana / Lisjak, Klemen	2022	182	RUL
Mihelj, Nina	Določanje sprejemljive teksture Kraškega pršuta	Demšar, Lea	2022	183	RUL
Lunder, Lara	Fermentacijske lastnosti nekonvencionalnih vinskih kvasovk in mlečnokislinskih bakterij	Košmerl, Tatjana	2022	184	RUL
Lesjak, Monika	Priprava biskvitov s povečano vsebnostjo beljakovin	Lušnic Polak, Mateja	2023	185	RUL
Ferlan, Tadeja	Pretvorbe biogenih aminov med mlečnokislinsko fermentacijo mok iz stročnic	Cigić, Blaž / Jamnik, Polona	2023	186	RUL
Vabič, Ana	Odnos milenijcev do lastne pridelave in predelave hrane v urbanih okoljih	Kuhar, Aleš	2023	187	RUL
Klančar, Maruša	Optimizacija in ovrednotenje mlečnokislinske fermentacije fižolove moke z bakterijami rodu <i>Lactobacillus</i>	Jamnik, Polona / Cigić, Blaž	2023	188	RUL
Kukman, Nina	Mikrobiološka kakovost surovega mleka na slovenskem trgu	Čanžek Majhenič, Andreja	2023	189	RUL
Horvat, Nika	Primerjava postopkov testiranja protimikrobnega delovanja aktivnih pakirnih materialov za živila	Smole Možina, Sonja / Fras Zemljčič, Lidija	2023	190	RUL

Avtor	Naslov	Mentor / somentor	Leto	Zap. št.	URL
Kanc, Pia	Vpliv dodatka ajdovih lusk na tehnološke in senzorične lastnosti kruha	Požrl, Tomaž	2023	191	RUL
Lisičić, Belmin	Optično zaznavanje razrasta plesni in termična analiza vzorca	Prislan, Iztok / Milanič, Matija	2023	192	RUL
Žerjav, Kaja	Vpliv dodatka mletih konopljinih semen na prehransko vrednost in fizikalno-kemijske lastnosti mafinov	Lušnic Polak, Mateja	2023	193	RUL
Županc, Mateja	Mikrobiota kefirnega zrna	Čanžek Majhenič, Andreja	2023	194	RUL
Dimitrovska, Ivana	Ocena prispevka izbranega sadja in zelenjave k vnosu elementov s celodnevni obroki v vrtcih	Korošec, Mojca / Levart, Alenka	2023	195	RUL
Pintarič, Nina	Vpliv dodatka kaljenih lanenih semen na tehnološke in senzorične lastnosti kruha	Požrl, Tomaž	2023	196	RUL
Pokovec, Žiga	Vpliv dodatka ksantana na tvorbo heterocikličnih aminov v mesnem siru	Polak, Tomaž	2023	197	RUL
Radović, Boris	Vsebnost biogenih aminov v suhih salamah na slovenskem trgu	Polak, Tomaž	2023	198	RUL
Oluić, Lana	Mikrokapsulacija folne in askorbinske kisline v ionotropne hidrogele	Poklar Ulrih, Nataša / Skrt, Mihaela	2023	199	RUL
Keber, Sara	Pomen dušikovih spojin mošta pri stresnih alkoholnih fermentacijah	Košmerl, Tatjana	2023	200	RUL
Primožič, Sabina	Določanje pristnosti cimeta (<i>Cinnamomum</i> spp.) in mlete paprike (<i>Capsicum annuum</i>) na slovenskem tržišču	Poklar Ulrih, Nataša / Ogrinc, Nives	2024	201	RUL
Oblak, Ajda	Vsebnost fenolnih spojin in antioksidativni potencial kaljenih semen industrijske konoplje (<i>Cannabis sativa</i> L.)	Terpinc, Petra / Abramovič, Helena	2024	202	RUL
Gregorčič, Tina	Vpliv transglutaminaz na teksturne lastnosti mesnih emulzij	Polak, Tomaž	2024	203	RUL
Trček, Nikita	Primerjava tradicionalnih čevapčičev s hibridnimi mesnimi pripravki	Demšar, Lea	2024	204	RUL
Štangar, Maruša	Tehnologija izdelave liofilizirane ovčje albuminske skute ter njena uporabnost v prehrani športnikov in gastronomiji	Čanžek Majhenič, Andreja	2024	205	RUL
Trlep, Blaž	Priprava kapsulacijskega sistema za stabilizacijo rastlinskih dodatkov v mlečnih izdelkih	Osojnik Črnivec, Ilja Gasan / Poklar Ulrih, Nataša	2024	206	RUL
Kresnik, Marija Maja	Tvorba biogenih aminov v sušenih salamah med skladiščenjem pri sobni temperaturi	Demšar, Lea	2024	207	RUL
Pepelko, Sara	Masnospektrometrična kvantifikacija polifenolnih spojin v ekstraktih invazivnih dresnikov knotweed species	Pogačnik da Silva, Lea / Kosjek, Tina	2024	208	RUL
Simić, Pavle	Analiza eteričnih olj rožmarina (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) in lovorja (<i>Laurus nobilis</i> L.) na slovenskem tržišču	Poklar Ulrih, Nataša / Ogrinc, Nives	2024	209	RUL
Šturm, Zala	Rast plesni vrste <i>Aspergillus flavus</i> in tvorba aflatoksina B1 v značilnih razmerah za izdelavo suhih salam	Jeršek, Barbara / Polak, Tomaž	2024	210	RUL
Ovtar, Barbara	Antioksidativne lastnosti vina sorte Refoška na Primorskem	Košmerl, Tatjana	2024	211	RUL
Burgar, Jerneja	Vpliv vodnih izvlečkov bukovega ostrigarja <i>Pleurotus ostreatus</i> na mikrobiološko obstojnost kruha	Klančnik, Anja / Šoronja Simović, Dragana	2024	212	RUL
Buda, Ana	Senzorična sprejemljivost sladoleda s preoblikovano sestavo	Korošec, Mojca / Mohar Lorbeg, Petra	2024	213	RUL
Kržin, Maja	Priprava in vrednotenje biskvitov z različnimi nadomestki saharoze	Lušnic Polak, Mateja	2024	214	RUL
Kegl, Eliza Julijana	Vpliv prehranskega znanja in odnosa do prehrane na stanje prehranjenosti pri starejši populaciji v Sloveniji	Kuhar, Aleš	2024	215	RUL
Karara Geršak, Ema Luna	Sprejemljivost mesa piščancev, krmljenih z dodatkom ličink črne bojvniške muhe (<i>Hermetia illucens</i> L.), pri potrošnikih	Kuhar, Aleš / Korošec, Mojca	2024	216	RUL
Škufca, Katarina	Zmanjševanje uparjanja med kuhanjem pивine pri proizvodnji piva	Požrl, Tomaž	2024	217	RUL
Recer Ajdič, Lina	Uporaba dodatka kaljenih zrn pri pripravi pekovskih izdelkov	Požrl, Tomaž / Bertonec, Jasna	2024	218	RUL
Goljevšček, Pija	Pridelava nizkoalkoholnega belega vina z dodatkom glukoza-oksidade in katalaze	Košmerl, Tatjana	2024	219	RUL
Korat, Gašper	Vpliv pripravka Aromazyme na biotransformacijo aromatičnih spojin iz hmelja med fermentacijo piva	Terpinc, Petra / Ocirk, Miha	2024	220	RUL
Lenarčič, Ema	Enološke lastnosti različnih vrst kvasovk rodu <i>Hanseniaspora</i>	Čadež, Neža / Košmerl, Tatjana	2024	221	RUL
Sel, Zala	Termično inducirane reakcije izbranih mono- in disaharidov z asparaginom ter analiza nastalih produktov	Prislan, Iztok / Kočar, Drago	2024	222	RUL
Kjiroska, Andrijana	Tomato pomace as a source of hydrocolloids for preparation of emulsions	Cigić, Blaž / Temkov, Mišela	2024	223	RUL
Plateis, Zala	Mlečnokislinska fermentacija in mikrobiološka varnost liofiliziranih hišnih črčkov in ličink mokařja	Jeršek, Barbara / Jamnik, Polona	2024	224	RUL

Avtor	Naslov	Mentor / somentor	Leto	Zap. št.	URL
Štern, Monika	Kemijske, senzorične in funkcionalne lastnosti kisle sirotke, fermentirane z mikroorganizmi iz kefirnih zrn	Čanžek Majhenič, Andreja	2024	225	RUL
Arnšek, Pina	Prehranske in fizikalno-kemijske lastnosti izbranega peciva z dodatkom spiruline	Lušnic Polak, Mateja	2024	226	RUL
Mustafa, Eva	Vpliv različnega dodatka vode in soli med praženjem semen na slanost in kakovostne parametre bučnega olja	Terpinc, Petra / Šegatin, Nataša	2024	227	RUL
Vagaja, Katja	Vpliv dodanih sladkorjev na tvorbo aflatoksinov B1 in B2 v masi za suhe salame inokulirani s plesnijo vrste <i>Aspergillus parasiticus</i>	Polak, Tomaž	2024	228	RUL
Javornik, Rosanda	Fenotipske razlike med invazivnimi in avtohtonimi vrstami kvasovk rodu <i>Hanseniaspora</i>	Čadež, Neža	2024	229	RUL
Grandovec, Eva	Analiza vsebnosti zunajceličnih polimernih snovi bakterij vrst <i>Ligilactobacillus salivarius</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Limosilactobacillus reuteri</i> in <i>Pseudomonas fragi</i>	Klančnik, Anja / Sabotič, Jerica	2024	230	RUL
Kopač, Tomaž	Maščobnokislinska sestava čokolade ter vpliv temperaturnega režima na fazne prehode	Vidrih, Rajko / Prislan, Iztok	2024	231	RUL

DOKTORSKE DISERTACIJE S PODROČJA ŽIVILSTVA IN PREHRANE V LETIH 2022–2024

BERLIC, Maja

Vpliv z antioksidanti bogate prehrane v vrtcih na oksidativni stres pri zdravih otrocih [Elektronski vir] : doktorska disertacija = The effect of antioxidant-rich kindergarten diet on oxidative stress in healthy children : doctoral dissertation / Maja Berlic. - Ljubljana : [M. Berlic], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XI, 76 f., [10] f. pril.)) : ilustr.

Mentor Tadej Battelino, somentorica Mojca Korošec. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

prehrana / prehranske smernice / predšolski otroci / vrtčevski obroki / dnevni vnos živil / načrtovanje obrokov / organiziran sistem šolske prehrane / kemijska analiza / hranilna vrednost / antioksidanti / skupna antioksidativna kapaciteta / oksidativni stres / nutrition / dietary guidelines / preschool children / kindergarten meals / daily food intake / meal planning / organized school diet system / chemical analysis / nutritional value / antioxidants / total antioxidant capacity / oxidative stress

V Sloveniji je v vrtece vključenih več kot 90 % 4–6-letnih otrok, kjer z obroki zaužijejo do 75 % dnevnih energijskih in hranilnih potreb. Glavni namen raziskovalnega dela je bil raziskati, ali lahko 10-dnevna, z antioksidanti bogata vrtčevska prehrana prispeva k znižanju označevalcev oksidativnega stresa pri zdravih otrocih. V raziskavo smo vključili 57 zdravih otrok v starosti 5–6 let, iz 6 vrtcev in jih randomizirali v prototipno (n=40; 4 vrtci) in kontrolno skupino (n=17; 2 vrtca). Na podlagi kemijske analize skupne antioksidativne kapacitete, vsebnosti energije, makrohranil in izbranih elementov v posameznih 5-dnevnih vrtčevskih obrokih, na podlagi s spletnim orodjem za ocenjevanje prehrane (OPKP) ovrednotene hranilne vrednosti 7-dnevnih tehtanih prehranskih dnevnikov iz vrtca in izven vrtca in na podlagi laboratorijskih analiz vzorcev urina pred in po intervencijski prehrani ter vzorcev krvi po intervencijski prehrani smo primerjali prispevek z antioksidanti bogatih vrtčevskih obrokov (prototipni obroki) s prispevkom kontrolnih vrtčevskih obrokov, na označevalce oksidativnega stresa pri udeležencih. Rezultati raziskave so pokazali, da je dobro načrtovana in natančno izvedena vrtčevska prehrana bogata z antioksidanti, v primerjavi s kontrolno vrtčevsko prehrano, prispevala k bolj optimalnim dnevnim vnosom zdravih skupin živil pri udeležencih, k bolj optimalni prehranski kakovosti pripravljenih obrokov in prispevala k visokemu skupnemu vnosu prehranskih antioksidantov pri udeležencih raziskave. Vse to se je odrazilo v signifikantnem znižanju 8-izo-15-prostaglandina-F-2 alfa v urinu udeležencev prototipne skupine po končani intervenciji in v signifikantno negativni korelaciji med vnosom prehranskih antioksidantov in serumskimi označevalci oksidativnega stresa. Naše ugotovitve močno spodbujajo ponujanje z antioksidanti bogate prehrane v vrtcu, zaradi njenega potencialnega prispevka k varovanju zdravja.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=159513>

613.2-053.4:641.1:66.094.3.097.8

COBISS.SI-ID [201638403](#)

1

GRUDEN, Špela

Proučevanje fizikalno-kemijskih in funkcionalnih lastnosti proteinov sirotke in njihovih hidrolizatov [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Study of the physico-chemical and functional properties of whey proteins and their hydrolysates : doctoral dissertation / Špela Gruden. - Ljubljana : [Š. Gruden], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XV, 121 f., [13] f. pril.)) : ilustr.

Mentorica Nataša Poklar Ulrih. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Živilstvo

sirotka / proteini sirotke / laktoferin / peptidi laktoferina / laktoperoksidaza / beta-laktoglobulin / protibakterijska aktivnost / antioksidativna aktivnost / strukturna stabilnost / encimska aktivnost / kapsulacija / vitamin D3 / whey / whey proteins / lactoferrin / lactoferrin derived peptides / lactoperoxidase / beta-lactoglobulin / antibacterial activity / antioxidant activity / conformation stability / enzymatic activity / encapsulation

Sirotka je glavni stranski proizvod v proizvodni sira in skute, katera zaradi negospodarnega ravnanja, predstavlja enega glavnih onesnaževalcev živilske industrije z vidika okolja. Hkrati pa sirotka predstavlja bogat vir proteinov kot so laktoferin (Lf), laktoperoksidaza (LPO) in beta-laktoglobulin (BLG), s številnimi strukturnimi in funkcionalnimi lastnostmi, kateri predstavljajo velik potencial za izrabo v živilski in farmacevtski industriji. V doktorski nalogi smo pokazali, da je temperaturna stabilnost Lf odvisna od stopnje saturacije z Fe³⁺ ioni, medtem ko slednja ne vpliva na pH stabilnost Lf. Z izvedbo encimske

hidrolize Lf, pri uporabi različnih encimov in pogojev encimske reakcije, smo pridobili raznolike hidrolizate Lf s protibakterijsko in antioksidativno aktivnostjo. Prvič smo pokazali protibakterijsko aktivnost Lf in peptidov Lf proti *Latilactobacillus sakei*. Strukturna stabilnost in encimska aktivnost LPO je bila odvisna od pH, temperature, tipa in molarne koncentracije pufra, medtem ko je prisotnost 10 mM Ca²⁺, Mg²⁺ in Na⁺ vplivala le na strukturno stabilnost LPO. Delna odstranitev Fe³⁺ in Ca²⁺ iz LPO je vodila v nižjo temperaturno stabilnost ter nižjo encimsko aktivnost LPO. BLG kot del WPI, smo uporabili za tvorbo WPI gelov po metodi toplotne in hladne gelacije, s katerimi smo uspešno kapsulirali vitamin D3 in peptide Lf. WPI geli, tvorjeni pri različnih pogojih, so imeli zaradi strukturnih razlik različno stabilnost v simulirani želodčni tekočini. Pokazali smo, da BLG A pri različnih vrednostih pH, veže dve molekuli vitamina D3. Z raziskavami zajetimi v doktorski disertaciji smo pokazali številne pozitivne fizikalno-kemijske in funkcionalne lastnosti analiziranih proteinov, ki bi pozitivno prispevale k učinkoviti izrabi sirotke.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=159218>

637.344:577.112

COBISS.SI-ID [200635139](#)

2

HRIBAR, Maša

Dejavniki preskrbljenosti odraslih prebivalcev Slovenije z vitaminom D [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Parameters influencing vitamin D status in the adult Slovenian population : doctoral dissertation / Maša Hribar. - Ljubljana : [M. Hribar], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XI, 155 f., [1] f. pril.)) : ilustr.

Mentorica Katja Žmitek. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

vitamin D / preskrbljenost z vitaminom D / prehranski vnos / 25-hidroksivitamin D / dejavniki preskrbljenosti z vitaminom D / vitamin D status / 25-hydroxyvitamin D / parameters of vitamin D status

Vitamin D (VitD) je ključen za normalno delovanje telesa, sodeluje pri metabolizmu kalcija in fosforja ter je povezan z dejavniki tveganja za nastanek različnih bolezni. Endogena sinteza VitD v koži ob izpostavitvi ultravijoličnim žarkom tipa B je ključna, medtem ko postane v odsotnosti endogene sinteze glavni vir prehranski vnos. Le malo živil naravno vsebuje VitD, a še tam se pogosto nahaja v manjših koncentracijah. Prehranski vir VitD so tudi živila, obogatena z VitD, in prehranska dopolnila. Cilj doktorskega dela je bil na osnovi serumskih koncentracij 25-hidroksivitamina D (25(OH)D) oceniti preskrbljenost in dejavnike preskrbljenosti z VitD v Sloveniji. Sistematični pregled literature je pokazal visoko razširjenost pomanjkanja, sploh v zimskem času. Nacionalno reprezentativna raziskava Nutrihealth pa je potrdila zaskrbljujoče rezultate. V obdobju podaljšane zime je bilo pomanjkanje ugotovljeno pri 81,6 % odraslih in 78,8 % starejših odraslih, hudo pomanjkanje pri 40,8 % odraslih in 34,6 % starejših odraslih. Dodatno smo preučevali dejavnike, ki vplivajo na preskrbljenost z VitD. Pozimi je bila razširjenost pomanjkanja VitD pogostejša pri tistih z indeksom telesne mase (ITM) nad 30 in tistih s svetlejšo konstitutivno obarvanostjo kože, medtem ko je bila poleti podoptimalna preskrbljenost pogostejša pri tistih z ITM nad 30, tistih s svetlejšo konstitutivno obarvanostjo kože, nižjim prehranskim vnosom VitD, ter tistih ki se pokrivajo z oblačili z namenom zaščite kože pred soncem. Poleg tega je sistematični pregled literature prehranskega vnosa VitD razkril nizke vnose pri vseh populacijah. V sistematični pregled je bila vključena tudi nacionalno reprezentativna raziskava, v sklopu katere je bil vnos VitD 2,7 µg pri mladostnikih, 2,9 µg pri odraslih in 2,5 µg pri starejših odraslih. V okviru doktorskega dela smo ugotovili zaskrbljujočo nizko preskrbljenost z VitD, kar je posledica vpliva različnih dejavnikov, med katerimi izstopajo ITM, konstitutivna obarvanost kože in prehranski vnos. Pomanjkanje VitD pomeni velik javnozdravstveni problem, ki zahteva sistematičen pristop na več nivojih. Pomembno je zasnovati politike in javnozdravstvene ukrepe, ki bodo omejili razširjenost pomanjkanja VitD v Sloveniji.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=158941>

613.2:612.392.015.6:577.161.2

COBISS.SI-ID [199834371](#)

3

JAKŠE, Boštjan

Vpliv življenjskega sloga in polnovredne rastlinske prehrane na telesno sestavo in izbrane dejavnike tveganja za pojavnost srčno-žilnih bolezni pri odraslih [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Influence of lifestyle and whole-food plant-based nutrition on body composition and selected cardiovascular disease risk factors in adults : doctoral dissertation / Boštjan Jakše. - Ljubljana : [B. Jakše], 2022. - X, 219 str., [32] str. pril. : ilustr.

Mentor Jernej Pajek. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

prehrana / rastlinska prehrana / veganska prehrana / polnovredna rastlinska prehrana / nadomestni obrok / telesna dejavnost / sistem podpore / zdravje / telesna masa / telesna sestava / delež telesne maščobe / srčno-žilne bolezni / hranilna zadostnost / nutrition / plant-based diet / vegan diet / whole-food / plant-based diet / meal replacement / physical activity / support system / health / body mass / body composition / body fat percentage / cardiovascular diseases / nutritional adequacy

V zadnjih dveh desetletjih se je zanimanje za strogo rastlinsko (vegansko) prehrano zelo povečalo. V znanstvenih raziskavah že dolgo konsistentno dokazujejo, da je strogo rastlinska prehrana povezana z ugodnimi zdravstvenimi učinki. Vendar pa obstajajo tudi določeni zadržki, predvsem glede hranilne zadostnosti. V sklopu doktorske naloge smo raziskovali tri raziskovalne probleme s tremi raziskavami (dve intervencijski in ena presečna). Namen raziskovanja je bil na zdravih odraslih preiskovancih preveriti učinek intervencijskega programa, ki je vključeval (i) polnovredno rastlinsko prehrano (zaužito do sitosti) z enim do dvema rastlinskima nadomestnima obrokom Herbalife Nutrition in izbranimi dopolnili k prehrani (vitamin B12, vitamin D v jesenskih in zimskih mesecih, omega-3 dolgoveržne večkrat nenasičene maščobne kisline (EPK in DHK)), (ii) telesno dejavnost in (iii) socialni podporni sistem, na telesno sestavo (z analizatorjem telesne sestave), srčno-žilne dejavnike tveganja (z laboratorijskimi analizami vrednosti serumskih lipoproteinov in meritvami krvnega tlaka) in hranilno zadostnost prehranske intervencije (z metodo 3-dnevnega tehtanega vnosa hrane). Rezultate (i) telesne sestave smo primerjali s priporočili Svetovne zdravstvene organizacije glede ustrezne vrednosti indeksa telesne mase in deleža telesne maščobe, (ii) izbranih dejavnikov tveganja za razvoj srčno-žilnih bolezni s priporočili Evropskega združenja za aterosklerozo in Evropskega združenja za kardiologijo ter (iii) hranilno zadostnost z referenčnimi vrednostmi Nemškega prehranskega društva, Avstrijskega prehranskega društva, Švicarskega društva za raziskovanje prehrane in Švicarskega združenja za prehrano (za vnos sladkorja s priporočili Svetovne zdravstvene organizacije in priporočili znanstveno-svetovalnega odbora Združenega kraljestva za prehrano ter za vnos EPK in DHK s priporočili Evropske agencije za varnost hrane). Rezultati analiz so pokazali pozitivno povezanost med našim intervencijskim programom ter izboljšanjem (npr. znižanje telesne mase v prvi raziskavi za 5,6 kg ob 0,3-kilogramski izgubi mišične mase in 13,4-odstotni izgubi telesne maščobe) in vzdrževanjem ustrezne telesne sestave ter tudi z izboljšanjem (npr. znižanje vrednosti lipoproteinov nizke gostote v prvi fazi druge raziskave s 3,2 mmol/l na 2,6 mmol/l oziroma za 15 %) in vzdrževanjem vrednosti izbranih srčno-žilnih dejavnikov tveganja. Izračun vnosa makrohranil in preučevanih mikrohranil je pokazal, da je polnovredna rastlinska prehrana po vseh naštetih primerjalnih merilih hranilno zadostna (izjemi sta bili mejno odstopanje kalcija in pričakovano premajhen vnos vitamina D v poletnih mesecih). Sodelovanje v intervencijskem programu se je izkazalo za učinkovito metodo pri nadzoru nad ustrezno telesno sestavo in izbranimi srčno-žilnimi dejavniki tveganja, medtem ko se je predpisana intervencijska prehrana izkazala za hranilno zadostno.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=135570>

613.2:641.56:641.1

COBISS.SI-ID [101688835](#)

4

MENCIN, Marjeta

Izboljšanje dostopnosti in antioksidativne aktivnosti vezanih fenolnih spojin iz semen pire (*Triticum spelta* L.) z izbranimi biotehnološkimi procesi [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Improvement of accessibility and antioxidant activity of bound phenolic compounds of spelt (*Triticum spelta* L.) seeds by selected biotechnological processes : doctoral dissertation / Marjeta Mencin. - Ljubljana : [M. Mencin], 2022. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (X, 125 f., [21] f. pril.) : ilustr.

Mentorica Petra Terpinč. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Živilstvo. - Krkina nagrada, 2023

pira / vezane in ekstraktibilne fenolne spojine / antioksidativna aktivnost / kaljenje / fermentacija / abiotski stres / biološka dostopnost / znotrajcelična oksidacija / *in vitro* gastrointestinalna prebava / spelt / bound and extractable phenolic compounds / antioxidant activity / germination / fermentation / enzymatic treatment / abiotic stress / bioaccessibility / intracellular oxidation / *in vitro* gastrointestinal digestion

V doktorski disertaciji smo preučili vpliv različnih biotehnoloških procesov (kaljenja, fermentacije, encimske obdelave) na vsebnost in dostopnost ekstraktibilnih in vezanih fenolnih spojin v semenih pire in na njihovo *in vitro* ter *in vivo* antioksidativno aktivnost. Glavne identificirane fenolne spojine v pirinih semenih so bile ferulna, p-kumarna, kavna in p-hidroksibenzojska kislina. Pri iskanju optimalnih pogojev abiotskega stresa med kaljenjem semen za čim večji prirast fenolov, je kaljenje pri

povečani slanosti in osmolarnosti brez aplicirane mehanske poškodbe najbolj povečalo vsebnost fenolnih spojin in izboljšalo njihovo antioksidativno aktivnost. Kombiniranje različnih biotehnoloških procesov predstavlja bistveno učinkovitejši način za povečanje vsebnosti fenolnih spojin kot posamezen proces. Največjo absolutno vsebnost ekstraktibilnih in vezanih posameznih fenolnih kislin smo določili v kaljenih semenih, fermentiranih s *S. cerevisiae*. Nadalje je obdelava kaljenih in fermentiranih semen s petimi hidrolitičnimi encimi znatno povečala vsebnost ekstraktibilnih fenolnih spojin, hkrati pa je imela negativen vpliv na vsebnost vezanih fenolnih spojin. Fenolne spojine iz kaljenih semen niso zaščitile modelnega organizma *S. cerevisiae* pred oksidacijo, medtem ko je večina ekstraktibilnih fenolnih spojin iz fermentiranih in encimsko obdelanih semen znižala znotrajcelično oksidacijo. Večji celični privzem fenolnih spojin ne pomeni nujno tudi večje antioksidativne aktivnosti *in vivo*, poleg količine je pomembna tudi oblika fenolnih spojin, ki vstopajo v celico. Rezultati kažejo na spremembe v sestavi ekstraktov med simulirano *in vitro* prebavo, saj so antioksidanti istega ekstrakta pokazali drugačen odziv proti različnim prostim radikalom v primerjavi z neobdelanimi semeni. Največjo vsebnost biološko dostopnih fenolnih spojin smo ugotovili v kaljenih semenih, fermentiranih s *S. cerevisiae*. Izgube fenolnih spojin po prebavi so bile velike, kljub temu pa so biološko obdelana semena imela še vedno znatno večjo vsebnost fenolnih spojin v primerjavi z neobdelanimi semeni.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=143528>

633.111.5:581.142:631.531:547.56

COBISS.SI-ID [135344387](#)

5

MIHELČIČ, Alenka

Vpliv izbranih talnih in reliefnih parametrov vinogradov v Vipavski dolini na sestavo grozdja in vina sorte 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Effect of selected soil and relief vineyards parameters on grape and wine composition of 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) in Vipava Valley : doctoral dissertation / Alenka Mihelčič. - Ljubljana : [A. Mihelčič], 2023. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XVI, 144 f., [24] f. pril.) : ilustr.

Mentor Klemen Lisjak, somentor Borut Vrščaj. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Živilstvo

'Merlot' / tla / fliš / vodni potencial trt / grozdje / jagodne kožice / grozdne pečke / vino / senzorična analiza / polifenoli / soil / flysch / vine water potential / grape / grape skins / grape seeds / wine / sensory analysis / polyphenols

Vinogradi na terasah predstavljajo pomembno kulturno dediščino. Zaradi visokih stroškov vzdrževanja, pomanjkanja strokovnih delavcev ter podnebnih sprememb smo želeli preučiti vpliv nagiba gojenja trt na terasah na kakovost vina in grozdja. V letih 2019 in 2020 se je na relativno majhnem območju s podobnimi mezoklimatskimi razmerami grozdje ter vino s teras in iz dolin razlikovalo. Ravninski vinogradi na dolinskem dnu in vinogradi na terasah so se razlikovali v talnih profilih ter morfologiji tal. Tla na terasah so vsebovala do 90 % skeleta, tla vinogradov dolin pa so bila neskeletna. V obeh letih so bile trte s teras v večjem sušnem stresu kot trte iz dolin. Trte teras so imele manjšo maso (2019: -48 %; 2020: -34 %) in število grozdov (2019: -31 %; 2020: -17 %), maso jagod (2019: -24 %; 2020: -9 %), manj pridelka (2019: -49 %; 2020: -33 %) ter večje razmerje med kožicami (2019: +78 %; 2020: +22 %) in pečkami (2019: +70 %; 2020: +25 %) ter pulpo. Temnejša barva pečk grozdja s teras je nakazovala na večjo fenolno zrelost. Vina s teras so imela v obeh letih večjo vsebnost skupnih polifenolov (2019: +12 %; 2020: +24 %), antocianinov (2019: +24 %; 2020: +67 %) in proantocianidinov (PAs; 2019: +37 %; 2020: +30 %) ter so bila senzorično bolj ocenjena (2019: +51 %; 2020: +74 %) kot vina iz vinogradov z dolin. V letu 2019 so imela vina manj prodelfinidinov (-14 %) in bila bolj galoilirana (+26 %). Vina s teras so vsebovala več višjih alkoholov ter manj estrov. Sveže kožice grozdja s teras so v obeh letih vsebovale več antocianinov in skupnih polifenolov, suhe kožice dolinskih vinogradov pa več nizkomolekularnih PAs ter so bile v letu 2019 bolj galoilane ter v letu 2020 vsebovale več prodelfinidinov. Pečke grozdja teras so bile bolj galoilane ter v letu 2019 vsebovale več skupnih polifenolov, PAs in nizkomolekularnih PAs. Pod enakimi eksperimentalnimi razmerami, kot so datum vzorčenja, standardizacija vinogradniških parametrov, so imela vina, pridelana na vinogradih s teras, boljši fenolni potencial in bila senzorično prepoznana kot boljša v primerjavi z vini ravnin. Razumevanje vpliva tal in rastišča na kakovost grozdja in vina je ključnega pomena za določanje najprimernejših vinogradniških leg vina merlot.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=153290>

634.8+663.2:543.2/.9

COBISS.SI-ID [180322819](#)

6

PEKLAJ, Eva

Sindrom relativnega energijskega primanjkljaja pri mladih slovenskih športnikih [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Relative energy deficit syndrome among young Slovenian athletes : doctoral dissertation / Eva Peklaj. - Ljubljana : [E. Peklaj], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XV, 213 f., [12] f. pril.)) : ilustr.

Mentorica Nada Rotovnik Kozjek, somentorica Barbara Koroušič Seljak. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

prehrana / mladi športniki / prehranske navade / sindrom relativnega energijskega primanjkljaja / nizka energijska razpoložljivost / motnje prehranjevanja / nutrition / young athletes / dietary habits / relative energy deficiency syndrome / low energy availability / disordered eating

Raziskava, opravljena na 150 športnikih, je raziskovala sindrom relativnega energijskega primanjkljaja v športu (REDs), ki lahko privede do številnih zdravstvenih težav in vpliva na uspešnost športnikov. Raziskava se je osredotočila na razvoj novega presejalnega orodja za odkrivanje REDs pri mladih športnikih z uporabo strojnega učenja, oceno prehranjevalnih navad in energijsko hranilnega vnosa ter raziskovanje vzrokov za pojav problematične nizke razpoložljivosti energije (LEA). Rezultati so pokazali, da so pri 87 % športnikov prisotni simptomi ali znaki, povezanih z REDs, z značilno višjo incidenco pri športnicah (91 %). Pri 71 % športnikov so bili ugotovljeni diagnostični kriteriji za REDs. Pri večini športnikov s prehranskim vnosom ni bilo doseženo pokritje njihovih potreb po energiji in hranilih. 17,7 % mladih in 10,8 % vrhunskih športnikov je v zadnjem mesecu izgubilo telesno maso. Raziskava nakazuje potrebo po integraciji presejanja prehranskih tveganj za razvoj REDs kot med ključne elemente rutinskih zdravstvenih pregledov športnikov in uporabo sodobnih tehnologij, kot je strojno učenje, za identifikacijo zdravstvenih tveganj.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=159604>

613.2:796.035

COBISS.SI-ID [201771779](#)

7

POLIČNIK, Rok

Razvoj računalniškega modela za načrtovanje in vrednotenje obrokov v sistemu organizirane šolske prehrane v Sloveniji [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Computer based model development for planning and evaluation of meals in organized school diet system in Slovenia : doctoral dissertation / Rok Poličnik. - Ljubljana : [R. Poličnik], 2023. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XI, 131 f., [7] f. pril.)) : ilustr.

Mentorica Barbara Koroušič Seljak. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

prehrana / otroci / mladostniki / šolska prehrana / šolska malica / šolsko kosilo / organiziran sistem šolske prehrane / prehranske smernice / načrtovanje obrokov / energijska vrednost / hranilna vrednost / računalniški model / programska oprema / kemijska analiza / nutrition / children / adolescents / school meals / school snack / school lunch / organized school diet system / dietary guidelines / meals planning / energy value / nutritional value / computer based model / software / chemical analysis

Razvili smo računalniški model za načrtovanje in vrednotenje šolske prehrane PISKR, ki temelji na prehranskih smernicah za vzgojno-izobraževalne zavode. V osnovnih šolah (n = 49) iz vseh statističnih regij Slovenije smo izvedli randomiziran nadzorovan poskus testiranja modela. Pred tem smo izvedli vzorčenje dopoldanskih malic in kosil. Malice smo analizirali v Odprti platformi za klinično prehrano, kosila pa s kemijsko analizo. Šolske malice po sestavi, z izjemo presežka skupnih sladkorjev, ustrezajo prehranskim smernicam. Šolska kosila imajo glede na smernice ugotovljeno nižjo energijsko vsebnost ter manjše vsebnosti maščob in ogljikovih hidratov. Vsebnost soli v kosilih je močno presežena. V sklopu intervencije smo v testno skupino šol uvedli računalniški model PISKR. Organizatorji šolske prehrane so z omenjenim modelom načrtovali tedenski jedilnik za malice in kosila in ga uvedli v prehrano mladostnikov (10–13 let). Po uvedbi je bila izvedena ponovitev vzorčenja in analize obrokov. Ugotovili smo, da računalniški model PISKR v kratkem obdobju testiranja ni statistično pomembno vplival na prehransko sestavo obrokov, čeprav predstavlja pomemben doprinos pri spremljanju sestave obrokov ter ekonomičen pristop analize sestave ponujenih obrokov v realnem času. Fokusne skupine so pokazale, da so organizatorji prehrane v večini šol časovno omejeni glede vodenja šolske prehrane. Slednje predstavlja pomembno oviro pri nadaljnji širitvi računalniškega modela v sistem šolske prehrane v Sloveniji.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=148044>

613.2-053.5:641.1

COBISS.SI-ID [159851779](#)

8

POREDOŠ, Tomaž

Vpliv dolgotrajne alergije na hrano na prehransko stanje otrok [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Influence of persistent food allergy on nutritional status of children with food allergy : doctoral dissertation / Tomaž Poredoš . - Ljubljana : [T. Poredoš], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (IX, 61 f.)) : ilustr.

Mentor Tadej Avčin. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

alergija na hrano / otroci / kravje mleko / jajca / arašidi / dietna prehrana / prehranski status / prehranski dnevnik / analiza prehranskega stanja / rast otrok / razvoj otrok / food allergy / children / cow's milk / eggs / peanuts / elimination diet / nutritional status / nutritional diary / analysis of nutritional status / child growth / child development

Namen naše raziskave je bil ovrednotiti vnos hranil in stanje rasti otrok z alergijami na hrano ter jih primerjati s kontrolno skupino otrok brez alergije na hrano. Opravili smo retrospektivno kohortno raziskavo z longitudinalnim spremljanjem v povprečnem trajanju $4,85 \pm 2,79$ let. Vključevali smo jih ob rednih obiskih v alergološki ambulantni na Pediatrični kliniki Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Starše ali skrbnike smo prosili, da s seboj prinesejo ustrezno izpolnjen tridnevni prehranski dnevnik, opravili smo tudi analizo krvi. Pri vseh otrocih so bile opravljene antropometrične meritve, ovrednotenje vnosa hranil in energije. Vključili smo le bolnike z eno prehransko alergijo (kravje mleko, jajca ali arašide) in njihove vrstnike brez prehranskih alergij. Iz podatkov našega retrospektivnega spremljanja smo dokazali, da alergija na kravje mleko, jajca ali arašide ni vplivala na rast otrok. Bolniki v opazovalnih skupinah so rasli podobno kot zdravi sovrstniki. Od postavitve diagnoze do vključitve v raziskavo smo opazali izboljšanje z vrednosti telesne višine za starost in z vrednosti telesne mase za starost ($p < 0,05$). V skupini otrok z alergijo na kravje mleko smo zaznali slabšo pokritost potreb po kalciju kot pri kontrolni skupini (48,86 % proti 63,83 %, $p < 0,05$). Uspeli smo pokazati, da zaradi alergij na arašide ali jajca rast in vnos hranil nista bila slabša kot pri kontrolni skupini ($p < 0,05$).

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=158243>

613.2-053.2:616-097

COBISS.SI-ID [197340419](#)

9

RAMANOVIĆ, Manuel

Influence of nutritional status on survival in patients treated for retroperitoneal sarcoma [Elektronski vir] : doctoral dissertation = Vpliv prehranskega statusa na preživetje bolnikov, zdravljenih zaradi retroperitonealnega sarkoma : doktorska disertacija / Manuel Ramanović. - Ljubljana : [M. Ramanović], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XV, 119 f., [13] f. pril.)) : ilustr.

Mentorica Nada Rotovnik Kozjek, somentor Andraž Perhavec. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

malnutrition / sarcopenia / cancer cachexia / inflammation / nutrition / body composition / surgical oncology / retroperitoneal sarcoma / podhranjenost / sarkopenija / rakasta kaheksija / vnetje / prehrana / sestava telesa / onkološka kirurgija / retroperitonealni sarkom

Retroperitoneal sarcomas (RPS) are rare connective tissue malignancy posing both diagnostic and therapeutic challenge in surgical oncology. The present thesis investigated the impact of body composition and immune and inflammatory-related biomarkers on oncologic and operative outcomes in patients with primary RPS underwent surgery for curative intent. In retrospective study were included total of 100 patients operated at Institute of Oncology in Ljubljana between 1999 and 2020. According to availability of preoperative computed tomography (CT) scans, study cohort was divided into 2 subgroups: one with CT scans ($N = 58$) and the other without. Using CT scans at the third lumbar vertebrae level, the preoperative skeletal muscle area (SMA), visceral and subcutaneous adipose tissue area (VAT and SAT), and muscle radiation attenuation (MRA) were measured. To diagnose malnutrition the Global Leadership Initiative on Malnutrition (GLIM) criteria were used, whereas low muscle mass (myopenia) was defined based on updated European Working Group on Sarcopenia in Older People criteria.

Furthermore, using the maximally selected log-rank statistics, optimal cohort-specific cut-off values for body composition parameters were investigated. Fearon in sod., criteria from 2011 were used to define cachexia. Myosteatosis was defined based on a BMI-adjusted MRA cut-offs. After a median follow-up period of 116 months, the estimated 5-year overall survival (OS) and local-recurrence free survival (LRFS) rates were 66.8 % and 77.6 %, respectively. Prevalence of malnutrition and cachexia was identical at 23.2 % of patients, while myopenia was detected in 33.3 %. Patients with preoperative malnutrition (log rank $p = 0.035$), myopenia (log rank $p = 0.032$) and cachexia (log rank $p = 0.028$) had a significantly lower 5-year OS. The skeletal muscle index and high subcutaneous adipose tissue index predicted LRFS in the univariate analysis ($p = 0.052$ and $p = 0.039$, respectively). Myosteatosis was linked to higher postoperative morbidity, but it was not correlated with OS and LRFS ($p = 0.023$). Lymphocyte to monocyte ratio (LMR) was the strongest inflammation-related prognostic biomarker, associated with OS ($LMR \leq 3$ vs. $LMR > 3$, multivariate adjusted-HR 2.67, $p = 0.027$). Other immune and inflammation-related biomarkers did not yield sufficient evidence to be regarded as independent predictors in primary RPS. Based on research results we may conclude that preoperative body composition, nutrition disorders (malnutrition, cachexia), and nutrition related syndromes (myopenia, myosteatosis) and inflammation-related indices are important risk factors for survival and oncologic outcome in primary RPS.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=165872>

613.24:616.006

COBISS.SI-ID [218892035](#)

10

REJEC, Boštjan

Ocena prehranskega vnosa natrija in kalija pri stanovalcih domov za starejše občane na Goriškem [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Assessment of sodium and potassium dietary intake among retirement home residents in Goriška region : doctoral dissertation / Boštjan Rejec. - Ljubljana : [B. Rejec], 2024. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XIII, 101 f., [21] f. pril.)) : ilustr.

Matjaž Klemenc, somentorica Petra Golja. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Prehrana

prehrana / starostniki / prehranski vnos / natrij / sol / kalij / domovi starejših občanov / nutrition / elderly people / dietary intake / sodium / salt / potassium / retirement homes

Prekomerno uživanje kuhinjske soli in njen vpliv na zdravje je v mnogih regijah sveta velik javnozdravstveni problem, saj je povezano s povečanim tveganjem za pojav številnih bolezni, kot so bolezni srca in ožilja, rak želodca, debelost ipd. Prehranski vnos kuhinjske soli med neinstitucionaliziranimi odraslimi v Sloveniji presega priporočila Svetovne zdravstvene organizacije (World Health Organisation; WHO). Ni pa znano, ali imajo stanovalci domov starejših občanov bolj uravnoteženo prehrano kot splošna populacija oziroma ali se trend prekomernega uživanja kuhinjske soli nadaljuje tudi med institucionaliziranimi starejšimi osebami. Poleg tega lahko na prehrano oziroma prehranjevanje starejših vplivajo fiziološke spremembe, ki se pojavijo s staranjem. V našem doktorskem delu smo zato preučili to problematiko. Vnos natrija in kalija smo ocenili z merjenjem količine natrija in kalija v 24-urnem urinu pri 47 stanovalcih treh domov starejših občanov na Goriškem. Povprečni $\pm$ SD vnos kuhinjske soli je bil $8,3 \pm 2,9$ g/dan, statistično značilno večji ($P < 0,001$) pri moških kot pri ženskah ($10,1 \pm 3,1$ v primerjavi s $7,3 \pm 2,2$ g/dan). Ocenjeni povprečni vnos kalija je bil $2,63 \pm 0,59$ g/dan pri moških in $2,00 \pm 0,77$ g/dan pri ženskah (povprečno $2,23 \pm 0,77$ g/dan). Vnos natrija oziroma kuhinjske soli pri stanovalcih domov starejših občanov na Goriškem, zlasti pri moških, presega priporočila (manj kot 5 g/dan) WHO, vendar je manjši ($P < 0,001$) kot pri odraslih prebivalcih Slovenije, starih 25–65 let. Povprečni dnevni vnos kalija v preiskovani skupini je bil pod priporočili WHO (vsaj 3,5 g kalija na dan) in manjši ($P < 0,001$) kot pri odraslih prebivalcih Slovenije. Posledično nismo zaznali značilnih razlik v razmerju Na/K v primerjavi z odraslimi prebivalci Slovenije.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=158935>

613.27-053.9

COBISS.SI-ID [199837699](#)

11

ŠTURM, Luka

Priprava vodotopnega propolisa in proučevanje mehanizmov njegovega delovanja v modelnih vodnih in lipidnih sistemih [Elektronski vir] : doktorska disertacija = Preparation of water-soluble propolis and study of the mechanisms of its

action in model aqueous and lipid systems : doctoral dissertation / Luka Šturm. - Ljubljana : [L. Šturm], 2023. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (X, 98 f., [3] f. pril.) : ilustr.

Mentorica Nataša Poklar Ulrih. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Živilstvo. - Krkina nagrada, 2024

propolis / propolisov ekstrakt / kapsulacija / sušenje z razprševanjem / liofilizacija / arabski gumi / antioksidativne lastnosti / protibakterijsko delovanje / liposomi / EGCG / krizin / kvercetin / kavna kislina / trans-ferulna kislina / sinergija / propolis / propolis extract / encapsulation / spray-drying / lyophilisation / gum arabic / antioxidative properties / antibacterial properties / liposomes / EGCG / chrysin / quercetin / caffeic acid / trans-ferulic acid / synergy

Propolis je lipofilna, lepljiva snov znana po svoji močni biološki aktivnosti. Že stoletja se uporablja v medicini, a je njegova uporaba omejena zaradi močnega okusa in arome, netopnosti v vodi in slabega izkoristka med obdelavo. Večino njegovih omejitev lahko rešimo s kapsulacijo v različne polisaharidne nosilce, predvsem z metodama liofilizacije in sušenja z razprševanjem. Z optimizacijo postopka kapsulacije propolisovega ekstrakta smo pridobili vodotopne propolisove mikrodcelce, ki ne vsebujejo organskih topil, imajo močno biološko aktivnost, dobro stabilnost, med preprosto pripravo pa smo minimalizirali izgube pomembnih molekul v njih. Za pripravo vzorcev se je kot najboljša metoda izkazala liofilizacija. V nadaljevanju smo primerjali aktivnost mikrodcelcev s propolisovim ekstraktom. Raziskave so pokazale, da imajo tako mikrodcelci kot propolisov ekstrakt dobre antioksidativne lastnosti, ki so v primeru mikrodcelcev boljše v olju (sončnično, ribje), v primeru ekstrakta pa v liposomih. Propolisov ekstrakt je imel tudi boljše protibakterijsko delovanje in večji vpliv na temperaturo faznega prehoda lipidnega dvosloja. Da smo dokazali sinergistične učinke polifenolov v propolisu, smo pripravili mešanice s petimi izbranimi polifenoli ((-)-epigallocatehin-3-galat (EGCG), krizin, kvercetin, kavna kislina, trans-ferulna kislina) in preverili njihov vpliv na lipidni dvosloj. Izkazalo se je, da nekatere kombinacije kažejo sinergistično, druge pa antagonistično delovanje. Na koncu smo s pomočjo mikroskopije, diferenčne dinamične kalorimetrije in izotermne titracijske kalorimetrije dokazali tudi, da je vpliv EGCG na temperaturo faznega prehoda dvosloja posledica različne agregacije liposomov, ki je odvisna od koncentracije EGCG v raztopini.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=152995>

638.135:615.014.6:577.352

COBISS.SI-ID [177629699](#)

12

ZABUKOVEC, Polona

Vpliv kvasovkam dostopnega dušika in razmerja vrst kvasovk v združeni starterski kulturi na kakovost vina [Elektronski vir] : doktorska disertacija = The influence of yeast assimilable nitrogen and the ratio of yeast species in combined starter culture on wine quality : doctoral dissertation / Polona Zabukovec. - Ljubljana : [P. Zabukovec], 2023. - 1 spletni vir (1 datoteka PDF (XVI, 151 f., [5] f. pril.) : ilustr.

Mentor Franc Čuš, somentorica Neža Čadež. - Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje Živilstvo

vino / 'Sauvignon' / 'Kerner' / spontana alkoholna fermentacija / inokulirana alkoholna fermentacija / kvasovke / združena starterska kultura / komercialni sev kvasovk / fermentacijska kinetika / kvasovkam dostopni dušik / kemijska sestava / aromatične spojine / senzorične lastnosti / wine / spontaneous alcoholic fermentation / inoculated alcoholic fermentation / yeasts / combined starter culture / commercial wine strain / fermentation kinetics / yeast assimilable nitrogen / chemical composition / aromatic compounds / sensory properties

Spontana alkoholna fermentacija (AF) mošta je proces, v katerem potekajo raznolike mikrobiološke interakcije med prevladujočima populacijama kvasovk rodu *Saccharomyces* in med ostalimi ne-*Saccharomyces* kvasovkami. V laboratorijskih vinifikacijah moštov grozdja osmih različnih sort vinske trte iz vinorodnih dežel Primorska, Posavje in Podravje smo spremljali potek spontane AF z merjenjem koncentracije izhajajočega CO₂. Med potekom AF smo vzorčili mošte ter izolirali 46 sevov *Saccharomyces cerevisiae* in 18 sevov ne-*Saccharomyces* vrst kvasovk (*Hanseniaspora uvarum*, *Pichia kudriavzevii*, *Saturnispora diversa* in *Starmerella bacillaris*). S spremljanjem fermentacijske kinetike AF smo potrdili relativno počasnost spontanah AF in vpliv različnega deleža ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* kvasovk na kemijsko sestavo vina oziroma nedokončanje AF. V nadaljevanju smo preverili sposobnost in učinkovitost združene starterske kulture lastnih sevov *S. cerevisiae* (K3161), *H. uvarum* (Mer383) in *S. bacillaris* (MF3161) v različnih razmerjih za izpeljavo AF moštov sort

'Sauvignon' in 'Kerner' z dodanim komercialnim dušikovim hranilom v koncentracijah kvasovkam dostopnega dušika (YAN). Sočasno smo izvedli še kontrolne AF s komercialnim sevom EC1118 (*S. cerevisiae*). Po končanih AF, inokuliranih z združeno startersko kulturo lastnih kvasovk, so imela obravnavanja z najmanjšo vsebnostjo YAN večje koncentracije hlapnih spojin v pridelanih vinih, predvsem sortnih tiolov, linaloola, izoamil acetata, etil heksanoata, etil kaprilata, etil kaprata in etil lavrata. Pri spremljanju vpliva sestave inokuluma kvasovk smo v vinih obeh sort določili razlike za spojine glicerol, jabolčno kislino, reducirajoče sladkorje, izoamil acetat, dietil sukeinat in γ -butirolakton. Vina, pridelana s komercialnim sevom, so bila izrazitejša v rastlinskih zaznavah, medtem ko so bila vina, pridelana z združeno startersko kulturo lastnih kvasovk, intenzivnejša v sadno-cvetličnih zaznavah. V nalogi smo potrdili uporabo lokalnih kvasovk naravne mikrobiote grozdja, *S. cerevisiae* in ne-*Saccharomyces*, ki so bile pridobljene tekom spontanah AF ter njihov potencial v nadaljnjih inokuliranih AF za pridelavo kakovostnih vin iz vinorodnih dežel Slovenije.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=151938>

663.252:579.67

COBISS.SI-ID [169937411](https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=151938)

13

IMENSKO KAZALO DOKTORANDOV IN NJIHOVIH MENTORJEV TER SOMENTORJEV

Avčin, Tadej (mentor)	9
Battelino, Tadej (mentor)	1
Berlic, Maja (avtor)	1
Čadež, Neža (somentor)	13
Čuš, Franc (mentor)	13
Golja, Petra (somentor)	11
Gruden, Špela (avtor)	2
Hribar, Maša (avtor)	3
Jakše, Boštjan (avtor)	4
Klemenc, Matjaž (mentor)	11
Korošec, Mojca (somentor)	1
Koroušić-Seljak, Barbara (mentor)	8
Koroušić-Seljak, Barbara (somentor)	7
Lisjak, Klemen (mentor)	6
Mencin, Marjeta (avtor)	5
Mihelčič, Alenka (avtor)	6
Pajek, Jernej (mentor)	4
Peklaj, Eva (avtor)	7
Perhavec, Andraž (somentor)	10
Poklar Ulrih, Nataša (mentor)	2, 12
Poličnik, Rok (avtor)	8
Poredoš, Tomaž (avtor)	9
Ramanović, Manuel (avtor)	10
Rejec, Boštjan (avtor)	11
Rotovnik-Kozjek, Nada (mentor)	7, 10
Šturm, Luka (avtor)	12
Terpinc, Petra (mentor)	5
Vrščaj, Borut (somentor)	6
Zabukovec, Polona (avtor)	13
Žmitek, Katja (mentor)	3

PREDMETNO KAZALO DOKTORSKIH DISERTACIJ S PODROČJA ŽIVILSTVA IN PREHRANE V LETIH 2022–2024

25-hidroksivitamin D 3	elderly people 11
25-hydroxyvitamin D 3	elimination diet 9
abiotic stress 5	encapsulation 2, 12
abiotiski stres 5	encimska aktivnost 2
adolescents 8	energijska vrednost 8
alergija na hrano 9	energy value 8
analiza prehranskega stanja 9	enzymatic activity 2
analysis of nutritional status 9	enzymatic treatment 5
antibacterial activity 2	fermentacija 5
antibacterial properties 12	fermentacijska kinetika 13
antioksidanti 1	fermentation 5
antioksidativna aktivnost 2, 5	fermentation kinetics 13
antioksidativne lastnosti 12	fliš 6
antioxidant activity 2, 5	flysch 6
antioxidants 1	food allergy 9
antioxidative properties 12	germination 5
arabski gumi 12	grape 6
arašidi 9	grape seeds 6
aromatic compounds 13	grape skins 6
aromatične spojine 13	grozdje 6
beta-lactoglobulin 2	grozdne pečke 6
beta-laktoglobulin 2	gum arabic 12
bioaccessibility 5	health 4
biološka dostopnost 5	hranilna vrednost 1, 8
body composition 4, 10	hranilna zadostnost 4
body fat percentage 4	<i>in vitro</i> gastrointestinal digestion 5
body mass 4	<i>in vitro</i> gastrointestinalna prebava 5
bound and extractable phenolic compounds 5	inflammation 10
caffeic acid 12	inoculated alcoholic fermentation 13
cancer cachexia 10	inokulirana alkoholna fermentacija 13
cardiovascular diseases 4	intracellular oxidation 5
chemical analysis 1, 8	jagodne kožice 6
chemical composition 13	jajca 9
child development 9	kalij 11
child growth 9	kaljenje 5
children 8, 9	kapsulacija 2, 12
chrysin 12	kavna kislina 12
combined starter culture 13	kemijska analiza 1, 8
commercial wine strain 13	kemijska sestava 13
computer based model 8	'Kerner' 13
conformation stability 2	kindergarten meals 1
cow's milk 9	komercialni sev kvasovk 13
daily food intake 1	kravje mleko 9
dejavniki preskrbljenosti z vitaminom D 3	krizin 12
delež telesne maščobe 4	kvasovkam dostopni dušik 13
dietary guidelines 1, 8	kvasovke 13
dietary habits 7	kvercetin 12
dietary intake 11	lactoferrin 2
dietna prehrana 9	lactoferrin derived peptides 2
disordered eating 7	lactoperoxidase 2
dnevni vnos živil 1	laktoferin 2
domovi starejših občanov 11	laktoperoksidaza 2
EGCG 12	liofilizacija 12
eggs 9	liposomes 12

- liposomi 12
 low energy availability 7
 lyophilisation 12
 malnutrition 10
 meal planning 1
 meal replacement 4
 meals planning 8
 'Merlot' 6
 mladi športniki 7
 mladostniki 8
 motnje prehranjevanja 7
 načrtovanje obrokov 1, 8
 nadomestni obrok 4
 natrij 11
 nizka energijska razpoložljivost 7
 nutrition 1, 4, 7, 8, 10, 11
 nutritional adequacy 4
 nutritional diary 9
 nutritional status 9
 nutritional value 1, 8
 oksidativni stres 1
 onkološka kirurgija 10
 organized school diet system 1, 8
 organiziran sistem šolske prehrane 1, 8
 otroci 8, 9
 oxidative stress 1
 parameters of vitamin D status 3
 peanuts 9
 peptidi laktoferina 2
 physical activity 4
 pira 5
 plant-based diet 4
 podhranjenost 10
 polifenoli 6
 polnovredna rastlinska prehrana 4
 polyphenols 6
 potassium 11
 predšolski otroci 1
 prehrana 1, 4, 7, 8, 10, 11
 prehranske navade 7
 prehranske smernice 1, 8
 prehranski dnevnik 9
 prehranski status 9
 prehranski vnos 3, 11
 preschool children 1
 preskrbljenost z vitaminom D 3
 programska oprema 8
 propolis 12
 propolis extract 12
 propolisov ekstrakt 12
 proteini sirotke 2
 protibakterijska aktivnost 2
 protibakterijsko delovanje 12
 quercetin 12
 računalniški model 8
 rakasta kaheksija 10
 rast otrok 9
 rastlinska prehrana 4
 razvoj otrok 9
 relative energy deficiency syndrome 7
 retirement homes 11
 retroperitoneal sarcoma 10
 retroperitonealni sarkom 10
 salt 11
 sarcopenia 10
 sarkopenija 10
 'Sauvignon' 13
 school lunch 8
 school meals 8
 school snack 8
 sensory analysis 6
 sensory properties 13
 senzorična analiza 6
 senzorične lastnosti 13
 sestava telesa 10
 sindrom relativnega energijskega primanjkljaja 7
 sinergija 12
 sirotka 2
 sistem podpore 4
 skupna antioksidativna kapaciteta 1
 sodium 11
 software 8
 soil 6
 sol 11
 spelt 5
 spontana alkoholna fermentacija 13
 spontaneous alcoholic fermentation 13
 spray-drying 12
 srčno-žilne bolezni 4
 starostniki 11
 strukturna stabilnost 2
 support system 4
 surgical oncology 10
 sušenje z razprševanjem 12
 synergy 12
 šolska malica 8
 šolska prehrana 8
 šolsko kosilo 8
 telesna dejavnost 4
 telesna masa 4
 telesna sestava 4
 tla 6
 total antioxidant capacity 1
 trans-ferulic acid 12
 trans-ferulna kislina 12
 vegan diet 4
 veganska prehrana 4
 vezane in ekstraktibilne fenolne spojine 5
 vino 6, 13
 vitamin D 3
 vitamin D status 3
 vitamin D3 2
 vnetje 10
 vodni potencial trt 6

vrščevski obroki 1
water potential of vine 6
whey 2
whey proteins 2
whole-food 4
wine 6, 13

yeast assimilable nitrogen 13
yeasts 13
young athletes 7
zdravje 4
združena starterska kultura 13
znotrajcelična oksidacija 5