



**Bitenčevi
živilski dnevi
2017**

**29
ADITIVI V ŽIVILIH – PREDNOSTI
IN TVEGANJA**

70 let Biotehniške fakultete

**Ljubljana
15. junij 2017**

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

in

SLOVENSKO PREHRANSKO DRUŠTVO

ADITIVI V ŽIVILIH – PREDNOSTI IN TVEGANJA

29. BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2017

FOOD ADDITIVES – BENEFITS AND RISKS

29th FOOD TECHNOLOGY DAYS 2017
dedicated to Prof. F. Bitenc

15. junij 2017

Ljubljana

70 let Biotehniške fakultete

LJUBLJANA, 2017

BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2017:

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

FOOD TECHNOLOGY DAYS 2017:

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

PROGRAMSKI ODBOR:

predsednica: prof. dr. Nataša POKLAR ULRIH
prof. dr. Helena ABRAMOVIČ
prof. dr. Lea DEMŠAR
doc. dr. Mojca KOROŠEC
prof. dr. Tatjana KOŠMERL
izr. prof. dr. Tomaž POŽRL
prof. dr. Irena ROGELJ
prof. dr. Sonja SMOLE MOŽINA

ORGANIZACIJSKI ODBOR:

predsednik: izr. prof. dr. Blaž CIGIČ
Miha BAHUN, mag. biotehnol.
dr. Katja ISTENIČ
Mirjana JEREMIČ, mag. inž. kem. teh.
Polona MEGUŠAR, mag. mikrobiol.
dr. Ajda OTA
izr. prof. dr. Lea POGAČNIK
doc. dr. Tomaž POLAK
doc. dr. Iztok PRISLAN
dr. Mihaela SKRT
doc. dr. Nataša ŠEGATIN
dr. Marko ŠNAJDER
Mateja VIDMAR, univ. dipl. inž. kem. tehnol.

UREDNIŠKI ODBOR:

prof. dr. Nataša POKLAR ULRIH
prof. dr. Helena ABRAMOVIČ
izr. prof. dr. Blaž CIGIČ
izr. prof. dr. Lea POGAČNIK
doc. dr. Iztok PRISLAN
dr. Mihaela SKRT
doc. dr. Nataša ŠEGATIN

Vsi prispevki so recenzirani.

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

Brezplačen izvod

2. elektronska izdaja

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.SI-ID=290576896
ISBN 978-961-6908-14-6 (pdf)

<http://www.bf.uni-lj.si/index.php?id=1791>

KAZALO VSEBINE

Uvodna beseda	
Nataša POKLAR ULRIH in Blaž CIGIĆ	V
Prof. dr. Janez Hribar in njegovih 70 let	
Nataša POKLAR ULRIH in Rajko VIDRIH	VII
Splošni pregled in klasifikacija aditivov	
Helena ABRAMOVIČ, Blaž CIGIĆ, Lea POGAČNIK, Nataša POKLAR ULRIH, Iztok PRISLAN, Mihaela SKRT in Nataša ŠEGATIN	1
Biotehnološko pridobivanje aditivov	
Polona JAMNIK, Hrvoje PETKOVIĆ, Neža ČADEŽ, Martina AVBELJ, Lucija SLEMC, Luka KRANJC in Maja PAŠ	25
Ocena tveganj povezanih z aditivi v živilih	
Metka FILIPIČ in Barbara JERŠEK	43
Regulativa na področju aditivov in sorodnih snovi	
Jana FRANTAR in Blaža NAHTIGAL	60
Uporaba aditivov v živilstvu – Meso in mesni izdelki	
Tomaž POLAK in Lea DEMŠAR	74
Uporaba aditivov v živilstvu – Mlečni izdelki	
Andreja ČANŽEK MAJHENIČ	98
Uporaba aditivov v živilstvu – Sadje, zelenjava in pijače	
Tatjana KOŠMERL in Rajko VIDRIH	113
Uporaba aditivov v živilstvu – Izdelki iz žit	
Tomaž POŽRL in Mateja MODIC	125
Vplivi izbranih aditivov na zdravje	
Saša ILOVAR, Anija OREL in Rok OREL	142
Aditivi in imunski odziv	
Alojz IHAN	149
Aditivi in črevesna mikrobiota	
Primož TREVEN in Irena ROGELJ	157
Percepcija prehranskih aditivov s strani potrošnikov	
Tanja PAJK ŽONTAR	167
F4F – Funkcionalna živila prihodnosti	
Mateja MODIC	176
Strateško razvojno-inovacijsko partnerstvo SRIP hrana	
Petra MEDVED DJURAŠINOVIĆ in Tatjana ZAGORC	177



UVODNA BESEDA

Biotehniška fakulteta praznuje svojo 70. letnico. V okviru tega praznovanja so organizirani različni dogodki, med katerimi so tudi **29. Bitenčevi živilski dnevi**, ki so posvečeni aditivom. Aditive lahko definiramo kot snovi, ki se namensko dodajajo živilom za izboljšanje njihove varnosti in kakovosti. O aditivih vemo že veliko, saj je bila večina odobrenih aditivov ocenjena glede varnosti že pred desetletji. Vendar so se v tem času proizvodni procesi v živilski industriji in prehranske navade ljudi bistveno spremenile.

Predavanja na temo aditivov smo razdelili v tri sklope. V prvem sklopu predavanj bo podrobneje predstavljena vloga in mehanizmi delovanja v živilstvu pogosto uporabljenih aditivov, kot so konzervansi, antioksidanti, emulgatorji, stabilizatorji, želirna sredstva, barvila, sladila in ojačevalci arome. Razvoj molekularne biologije in fermentacijskih tehnik je omogočil, da se mnogo aditivov pridobi v biotehnoloških procesih. V nadaljevanju sledi ocena tveganj, povezanih z aditivi v živilstvu, saj mora za uporabo v živilih vsak aditiv izpolnjevati določene pogoje: ne sme ogrožati zdravja ljudi, zanj mora obstajati upravičena tehnološka potreba, njegova uporaba ne sme zavajati potrošnika. Regulativo na področju aditivov v Evropski uniji določa Uredba (ES) št. 1333/2008 kot krovni predpis, ki ureja uporabo aditivov v živilih in s celovitimi in poenostavljenimi postopki nadomešča in posodoblja prejšnje direktive in odločbe v zvezi z aditivi za živila.

V drugem sklopu predavanj se bomo posvetili uporabi aditivov v živilsko predelovalni industriji. Predstavljene bodo trenutne prakse uporabe aditivov, kakor tudi izzivi, s katerimi se srečuje živilsko predelovalna industrija. V mnogih živilih so aditivi nepogrešljivi, saj brez njihove uporabe izdelkom ni mogoče zagotoviti ustreznih standardov kakovosti in varnosti. V prispevkih so izpostavljeni aditivi, ki se uporabljajo v tehnologiji mesa in mesnih izdelkov, mlečnih izdelkov, sadja, zelenjave in pijač ter izdelkov iz žit. Zavedanje potrošnikov o nekaterih nezaželenih učinkih aditivov sili proizvajalce v izdelavo produktov s prijazno deklaracijo (clean label). Na drugi strani pa študije kažejo tudi na zdravju koristne učinke nekaterih aditivov. Vprašanja cenovne upravičenosti, dejanskih učinkov in odnosa potrošnikov bodo pomembno sooblikovala področje uporabe aditivov v živilih.

V zadnjem sklopu predavanj bomo obravnavali vpliv nekaterih aditivov na zdravje in percepcijo aditivov s strani potrošnikov.

Zanimivo je, da povečana incidenca mnogih sodobnih bolezni, od vnetnih črevesnih bolezni do sistemskih bolezni, kot je metabolični sindrom, sovpada s spremembami prehranskih navad v preteklosti. Klinične študije, ki bi proučevale vpliv aditivov na humano črevesno mikrobioto in zdravje na splošno, so redke. Večina podatkov izhaja iz *in vitro* študij in študij na živalih, rezultati pa so si pogosto nasprotujoči. Bolj pogosto se neželeni učinki pojavljajo pri ogroženih skupinah, kot so zelo majhni otroci z nezrelo presnovo, atopiki oz. alergiki in osebe s specifičnimi pomanjkanji določenih presnovnih encimov. V tem sklopu so podrobneje opisane raziskave o vplivu sladil in emulgatorjev, ki so zaradi široke uporabe in opaženih negativnih učinkov na zdravje, v zadnjem času vse bolj vroča tema raziskav. Izpostavljeni so tudi neželeni zdravstveni učinki nekaterih pogosto uporabljenih aditivov, kot so natrijev benzoat, umetna barvila, natrijev glutamat, nitrati in nitriti, sulfiti in umetna sladila.

Pri izbiri živil postajajo potrošniki v razvitih državah vse bolj zahtevni in kritični ter želijo živila, ki so varna, zdrava, atraktivnega videza, priročno embalarana, imajo dovolj dolg rok uporabnosti in so nenazadnje cenovno ugodna. Aditivi so s strani potrošnikov prepoznani kot snovi, ki za zdravje nimajo koristnih lastnosti oz. mu lahko celo škodijo. Ustrezno informiranje in izobraževanje potrošnikov o prehranskih aditivih, tako glede njihovih funkcij v živilih, kot tudi njihovega označevanja in morebitnih tveganjih, je ključnega pomena za realno percepcijo aditivov s strani potrošnikov.

29. Bitenčeve živilske dneve bomo zaključili z okroglo mizo o prednostih in tveganjih uporabe aditivov.

Vsi referati so objavljeni v elektronski obliki na internetni strani in shranjeni na priloženem USB ključu. Avtorjem, ki so bili pripravljeni sodelovati, se iskreno zahvaljujemo. Zahvaljujemo se tudi sponzorjem, ki so omogočili izvedbo dogodka.

Za programski in organizacijski odbor 29. BŽD
prof. dr. Nataša Poklar Ulrih in izr. prof. Blaž Cigić

PROF. DR. JANEZ HRIBAR IN NJEGOVIH 70 LET

Nataša POKLAR ULRIH in Rajko VIDRIH



Letos je prof. dr. Janez Hribar praznoval 70 let in se konec marca upokojil. Oba dogodka sovpadata s praznovanjem 70 letnice Biotehniške fakultete.

Prof. Hribar se je po maturi na Gimnaziji Poljane v Ljubljani vpisal na študij Živilske tehnologije in leta 1971 diplomiral ter se takoj zaposlil na Biotehniški fakulteti. Na Katedri za tehnologijo rastlinskih živil je bil najprej raziskovalec, nato asistent (1974) in po zaključku magistrskega študija na Univerzi v Zagrebu višji predavatelj. Po opravljenem doktoratu je bil izvoljen v naziv docenta za področje Predelave in skladiščenja sadja in vrtnin. Od leta 2000 je redni profesor za razširjeno področje Tehnologije predelave rastlinskih živil. Prof. dr. Janez Hribar se je strokovno izpopolnjeval na več tujih univerzah in inštitutih v Nemčiji, Italiji in Braziliji. Kot gostujoči profesor pa je predaval na Univerzi v Mariboru, na Hrvaškem, v Bosni in Hercegovini in v zadnjem obdobju v Črni gori.

Prof. dr. Janez Hribar je zavzet pedagoški delavec. Sodeloval je že pri univerzitetnem študiju Živilske tehnologije, sedaj študiju Živilstva in prehrane, pri študiju Agronomije in hortikulture, na Fakulteti za biosistemske vede Univerze v Mariboru, na Kmetijski fakulteti v Banja Luki in Univerzi Jurij Strossmayer v Osijeku. Bil je mentor več kot 100 diplomantom, med katerimi so prejemniki Prešernove nagrade za študente in Bitenčeve nagrade za najboljše diplomsko delo. Bil je mentor pri 5 znanstvenih magisterijih, 9 doktoratih in pri 4 mladih raziskovalcih.

Znanstveno raziskovalna dejavnost prof. dr. Janeza Hribarja je vseskozi usmerjena na področje tehnologij rastlinskih živil. Že z diplomskim delom se je vključil v ameriško-slovenski projekt »Postharvest behaviour of apples and pears«, ki je obravnaval problematiko poobiralnih tehnologij. To področje je poglobljeno raziskoval po opravljenem doktoratu kot nacionalni koordinator v mednarodnih projektih FLAIR in COST. V delovni skupini za sadjarstvo ALPE JADRAN je bil koordinator za področje skladiščenja in predelave sadja. Skupaj s sodelavci je v letu 1994 organiziral odmeven simpozij »Quality criteria« z udeleženci iz 18 držav. Mednarodno prepoznavnost so mu prinesle raziskave in prenos znanja v prakso na področju poobiralnih tehnologij sadja in vrtnin. Na področju predelave sadja velja posebej izpostaviti različne tehnološke rešitve v proizvodnji sadnih sokov. Večji del njegovega raziskovalnega dela zajema problematiko skladiščenja sadja in vrtnin v spremenjeni atmosferi. V zadnjem obdobju so njegove raziskave usmerjene v študij stresnih razmer v rastlinskih tkivih v aerobno anaerobnem ravnotežju. Kot vodja raziskovalne skupine se je intenzivno vključil v mednarodni projekt Evropske unije »Shelf-life prediction for improved safety and quality of foods«. V okviru tega projekta je njegova raziskovalna skupina organizirala odmevno delavnico z udeležbo raziskovalcev iz 12 držav. Prof. dr. Janez Hribar se raziskovalno ukvarja tudi z uporabo novih tehnologij ohranjanja svežosti sadja in vrtnin, kot je uporaba LED svetlobe pri različnih valovnih dolžinah. Področje arom v sadju in vrtninah je s stališča senzorične analize eden najpomembnejših pokazateljev kakovosti

živil in sprejemljivosti pri potrošnikih. V raziskavah poroča o dejavnikih, ki jih je z najsodobnejšo analitsko tehniko mogoče identificirati in kvantificirati. Odmevne so tudi raziskave fenolnih profilov v sadju in vrtninah glede na vplive različnih dejavnikov v času pridelave. Sadovi raziskovalnega dela prof. dr. Janeza Hribarja so številne objave z več kot 80 originalnimi znanstvenimi članki, večjim številom strokovnih člankov, vabljenih predavanj in objavljenih referatov na znanstvenih kongresih in posvetovanjih doma in v tujini. Njegovi bibliografski kazalniki upoštevajo preko 800 enot.

Posebej je potrebno omeniti tudi profesorjevo strokovno pospeševalno delo, saj se lahko pohvali z originalnimi tehnološkimi rešitvami pri več kot 100 objektih, ki predstavljajo avtorska dela na področju predelave in skladiščenja sadja in vrtnin. Predseduje več komisijam za senzorično ocenjevanje destilatov, sadnih sokov in izdelkov živil rastlinskega porekla na ocenjevanjih doma, v Avstriji, na Hrvaškem in v Srbiji.

Izstopajo tudi njegove vodstveno-organizacijske dejavnosti na Biotehniški fakulteti in na Univerzi v Ljubljani. Prof. dr. Janez Hribar je bil predstojnik in prodekan Oddelka za živilstvo, več mandatov prodekan in dva mandata dekan Biotehniške fakultete v različnih obdobjih. Na Univerzi v Ljubljani je vodil številne pomembne komisije, kot je Komisija za sistemizacijo, Komisija za delitev sredstev na univerzi, zadnjih 12 let pa je bil član in predsednik Upravnega odbora Univerze v Ljubljani. Je tudi član strokovnih in znanstvenih združenj, kot so International Society for Horticultural Science, American Society of Horticultural Science, Sadjarskega društva Slovenije in Slovenskega prehranskega društva ter član uredniškega odbora revije Food Technology and Biotechnology. Aktivno sodeluje na vsakoletnih delavnicah o priporočilih za skladiščenje sadja v okviru srednjeevropskega združenja raziskovalcev poobiranih tehnologij iz Nemčije, Švice, Avstrije, Južne Tirolske in Slovenije. Na Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano vrsto let vodi Svet za varno hrano. Na njemu svojstven način z občutkom za vodenje sodelavcev je omogočal konstanten in viden razvoj na vseh področjih svojega delovanja. Njegovim osebnim zaslugam gre pripisati tudi izboljšanje pogojev dela znotraj Univerze v Ljubljani in še posebej pri dokončanju gradnje Biološkega središča, razvoju Botaničnega vrta, selitve in združitve vseh kateder Oddelka za živilstvo na današnji lokaciji, obnove Oddelka za živilstvo, Oddelka za krajinsko arhitekturo, Oddelka za zootehniko, Oddelka za agronomijo, Oddelka za lesarstvo in nenazadnje novogradnje za potrebe izvajanja pedagoškega procesa vseh oddelkov in dekanata BF.

Za opravljeno delo je prejel številna priznanja in nagrade: 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, Priznanje za sodelovanje z Univerzo v Zagrebu, Priznanje za sodelovanje z Univerzo v Osijeku, Priznanje za sodelovanje z Univerzo v Banja Luki, Priznanje društva Sommelier Slovenije za dolgoletno sodelovanje in Pirčevo priznanje za delo v sadjarstvu.

Prof. dr. Janez Hribar je priljubljen in spoštovan v stroki, uživa veliko spoštovanje med sodelavci in študenti, je uveljavljen strokovnjak v mednarodnem prostoru, izredno komunikativen in razgledan sogovornik. Zato se mu ob tej priložnosti zahvaljujemo za opravljeno delo in mu želimo obilico zdravja in ustvarjalnosti.

SPLOŠNI PREGLED IN KLASIFIKACIJA ADITIVOV

Helena ABRAMOVICH¹, Blaž CIGIČ²,
Lea POGAČNIK³, Nataša POKLAR ULRIH⁴,
Iztok PRISLAN⁵, Mihaela SKRT⁶, Nataša ŠEGATIN⁷

Povzetek: Aditivi za živila so snovi, ki se dodajajo v različnih stopnjah predelave ali skladiščenja živil. Uporabljajo se iz tehnoloških razlogov z namenom ohranitve hranilne vrednosti in obstojnosti živila ter za izboljšanje organoleptičnih lastnosti živila. V prispevku so podrobneje predstavljeni vloga in mehanizmi delovanja nekaj v živilstvu pogosto uporabljenih aditivov: konzervansi, antioksidanti, emulgatorji, stabilizatorji, želirna sredstva, barvila, sladila in ojačevalci arome.

Ključne besede: aditivi za živila, varnost živil, kakovost živil, mehanizmi delovanja

GENERAL OVERVIEW AND CLASSIFICATION OF ADDITIVES

Abstract: Food additives are substances that are added at different stages of processing or storage of foods. They are used for a technological purpose in order to preserve the nutritional value and stability of foods, and to improve the organoleptic properties of food. The contribution presents in more detail the role and the mechanisms of action of some additives commonly used in the food industry: preservatives, antioxidants, emulsifiers, stabilisers, gelling agents, coloring agents, sweeteners and flavour enhancers.

Key words: food additives, food safety, food quality, mechanisms

¹ prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: helena.abramovic@bf.uni-lj.si

² izr. prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: blaz.cigic@bf.uni-lj.si

³ izr. prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lea.pogacnik@bf.uni-lj.si

⁴ prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: natasa.poklar@bf.uni-lj.si

⁵ doc. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: iztok.prislan@bf.uni-lj.si

⁶ asist. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mihaela.skrt@bf.uni-lj.si

⁷ doc. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: natasa.segatin@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Osnovni namen živilsko-predelovalne industrije je ponuditi široko paleto varnih, zdravih, hranilnih, vsečnih in okusnih izdelkov. Pri tem se trudi zadostiti potrošnikovim potrebam po kakovosti, uporabnosti, raznolikosti, stalni ponudbi in sprejemljivi ceni izdelkov. Vse večje so potrebe po pripravljenih ali predpripravljenih jedeh in novih živilskih izdelkih s podaljšano obstojnostjo. Nezanemarljivo je naraščajoče povpraševanje ljudi s posebnimi prehranskimi potrebami po izdelkih z manjšo vsebnostjo maščobe oz. soli ali izdelkih brez glutena. V preteklosti so stoletja pri pripravi živilskih izdelkov, predvsem z namenom podaljšati obstojnost, uporabljali le nekaj dodatkov, kot so sol, sladkor, kis, kvas in žveplo. Sodobni načini prehranjevanja in predelave hrane so privedli k temu, da se dandanes dodaja množica različnih snovi. Aditivov se povečini drži negativni prizvok. Vsesplošno mnenje je, da so nepotrebni in nenaravni, skratka, ne pomenijo nič dobrega.

V Evropi se uradna definicija za aditiv, ki je opredeljena v Uredbi (ES) št. 1333/2008, glasi »aditiv za živilo pomeni vsako snov, ki se običajno ne uživa kot živilo in običajno ni tipična sestavina živila, ki se iz tehnoloških razlogov namensko dodaja živilu med proizvodnjo, predelavo, pripravo, obdelavo, pakiranjem, prevozom ali hrambo, ne glede na to, ali ima hranilno vrednost ali ne, ter neposredno ali posredno postane ali lahko postane sestavina živila kot taka ali kot stranski proizvod živila«. Pri tem je običajno popolnoma jasno, kaj je sestavina živila in kaj aditiv. Npr. kis je sestavina, če pa se ocatno kislino kot tako doda samo, jo je kot aditiv potrebno navesti.

Za uporabo aditiva mora obstajati utemeljena potreba, ko učinka ni mogoče doseči z drugimi ekonomsko in tehnološko izvedljivimi sredstvi, pri čemer se ne sme zavajati potrošnika. Aditiv za živila naj se doda v najmanjši možni količini, ki omogoči učinek in ga je potrebno kot takega navesti. Njegova uporaba je pogojena s tem, da v predlagani količini na podlagi razpoložljivih znanstvenih dokazov ne ogroža zdravja potrošnika in predstavlja za potrošnika prednosti in ugodnosti. Aditivi za živila so skupina raznolikih snovi z različno namembnostjo in izvorom. Uporabljajo se z namenom ohranitve hranilne vrednosti živila in zagotovitve surovin ali sestavin živil za potrošnike s posebnimi prehranskimi potrebami; za izboljšanje oz. ohranjanje kakovosti ali obstojnosti živila; za izboljšanje organoleptičnih lastnosti živila, če se pri tem ne spremeni narava živila tako, da bi to zavajalo potrošnika; z namenom zagotovitve pomoči pri proizvodnji, predelavi, pripravi, obdelavi, pakiranju, prevozu ali skladiščenju živila tako, da aditiv za živila ni uporabljen za prikrivanje učinkov uporabe neustreznih surovin ali neželenih postopkov med izvajanjem katere koli od omenjenih dejavnosti (Uredba (ES) št. 1333/2008).

Sistem razvrstitve (klasifikacije) in oznak aditivov je bil vpeljan l. 1986. V EU imajo vsi aditivi, katerih uporaba je dovoljena v živilih, svoje številko s predpono E. Poleg snovi, ki jih med tehnološkim postopkom dodajamo pri pripravi živilskega izdelka, sodijo med aditive tudi sredstva, ki se uporabijo med samim postopkom in jih v končnem izdelku ni oziroma ne igrajo nobene vloge, pač pa olajšajo izvedbo postopka, npr. žveplov dioksid dodajo pri sekljanju sadja in zelenjave, da preprečijo porjavitev. Med aditive se ne uvrščajo snovi, ki se uporabljajo za izboljšanje prehranske vrednosti, kot so vitamini in minerali, ali snovi, ki se uporabljajo za tehnološke namene, kot so natrijev klorid, arome, encimi za živila in ekstrakcijska topila.

Uredba (ES) št. 1333/2008 določa, da se aditive za živila razvrsti v »funkcijske razrede« oz. kategorije aditivov, ki temeljijo na vlogi, ki jo ima aditiv. Funkcijski razredi aditivov

za živila v živilih ter aditivov za živila v aditivih za živila in encimih za živila, kot navaja Priloga I omenjene Uredbe, so sladila, barvila, konzervansi, antioksidanti, nosilci, kisline, sredstva za uravnavanje kislosti, sredstva proti sprijemanju, sredstva proti penjenju, sredstva za povečanje prostornine, emulgatorji, emulgirne soli, utrjevalci, ojačevalci arome, sredstva za penjenje, želirna sredstva, sredstva za glaziranje, sredstva za ohranjanje vlage, modificirani škrobi, plini za pakiranje, potisni plini, sredstva za vzhajanje, veziva, stabilizatorji, sredstva za zgostitev (gostila) in sredstva za obdelavo moke.

Večinoma so živila po svoji kemijski sestavi, strukturi, fizikalnih in termičnih lastnostih izredno heterogeni sistemi. V tem okolju vstopajo aditivi v številne medsebojne interakcije in v interakcije z ostalimi sestavinami živila. Različni aditivi se v živila dodajo iz različnih specifičnih razlogov. Posamezni aditivi pa imajo v živilu lahko več različnih vlog. Nosilci se uporabljajo za raztapljanje, razredčevanje, razprševanje ali drugo fizikalno spremembo snovi, ki so dodane živilu. Kisline povečajo kislost živila in/ali mu dajejo kisel okus. Sredstva za uravnavanje kislosti spremenijo ali nadzirajo kislost ali alkalnost živila. S sredstvi proti sprijemanju dosežemo zmanjšano težnjo posameznih delcev v živilu, da bi se med seboj sprijemali. S sredstvi proti penjenju preprečimo ali zmanjšujemo nastanek pene. Med sredstva za povečanje prostornine sodijo snovi, ki povečajo prostornino živila, ne da bi bistveno povečale njegovo energetsko vrednost. Emulgirne soli pripomorejo k homogeni porazdelitvi maščobe in drugih sestavin v siru. Utrjevalci omogočajo ali ohranjajo čvrstost sadja oz. zelenjave ali v povezavi z želirnimi sredstvi tvorijo oz. utrdijo žele. Sredstva za penjenje omogočajo homogeno razpršitev plinaste faze v tekočem ali v trdem živilu. Sredstva za glaziranje dajejo živilu lesk ali oblikujejo zaščitno oblogo. S sredstvi za ohranjanje vlage se preprečuje izsušitev živil pri nizki vlažnosti zraka ali pospešuje raztapljanje praška v vodi. Plini za pakiranje so plini (razen zraka), ki se dovajajo v embalažo ob namestitvi živila v navedeno embalažo. Vloga potisnih plinov je potiskanje živila iz embalaže. Veziva so snovi, ki tvorijo komplekse s kovinskimi ioni. Gostila omogočijo zgostitev tako, da povečujejo viskoznost. S sredstvi za vzhajanje (ali njihovimi kombinacijami) dosežemo povečanje prostornine različnih vrst testa in s sredstvi za obdelavo moke (razen emulgatorjev) dosežemo izboljšanje pecilnih lastnosti moke ali testa (Uredba (ES) št. 1333/2008).

Med pogosteje uporabljenimi aditivi za živila so konzervansi, antioksidanti, emulgatorji, stabilizatorji, želirna sredstva, barvila, sladila in ojačevalci arome. Zato bodo mehanizmi njihovega delovanja in učinki (vloga) v živilu v nadaljevanju predstavljeni nekoliko podrobneje.

2 DELOVANJE IN VLOGA IZBRANIH SKUPIN ADITIVOV

2.1 SLADILA

Sladila so naravne ali sintetične spojine, ki imajo v primerjavi s saharozo bistveno večjo sladilno moč in majhno energijsko vrednost. Sladkost posameznih sladil je odvisna od kemijske zgradbe molekul. Človek sladkost zaznava s čutilom za okus. Na jeziku imamo receptorje, ki se nahajajo v okušalnih mešičkih (brbončicah) in so razporejeni na konici, korenu in na robovih jezika. Razlikujemo štiri glavne okuse: sladko, slano, kislo in grenko. Receptorji za zaznavanje sladkega okusa so locirani na konici jezika.

Glede na izvor lahko sladila razdelimo na:

- anorganska sladila,

- naravna organska sladila,
- sintezna organska sladila.

Glede na hranilno vrednost jih razdelimo na:

- energijska sladila (saharidna: mono in disaharidi; škrobna: glukozni sirup, maltodekstrin, dekstroza, visokofruktozni sirup; sladkorni nadomestki: sladkorni polioli),
- neenergijska sladila (sintetična visokointenzivna: saharin, ciklamat, aspartam, acesulfam K, sukraloza, alimat, neotam, alitam; naravna visokointenzivna: taumatin, neohesperidin, steviozid, glicirizin, monelin, miraculin).

Glede na sladkost sladila lahko razdelimo tudi na:

- intenzivna sladila (slajša od saharoze: saharin, aspartam, acesulfam K, taumatin, neohesperidin dihidrohalkon, alitam, neotam),
- nadomestna sladila (približno enako sladka kot saharoza: hidrogenirani glukozni sirup, izomalt, maltitol, manitol, sorbitol, ksilitol, laktitol).

Po Uredbi (ES) št. 1333/2008 so sladila snovi, ki se uporabljajo za sladkanje živil ali kot namizna sladila. Kot aditiv se lahko vključi le, če izpolnjuje enega ali več naslednjih namenov:

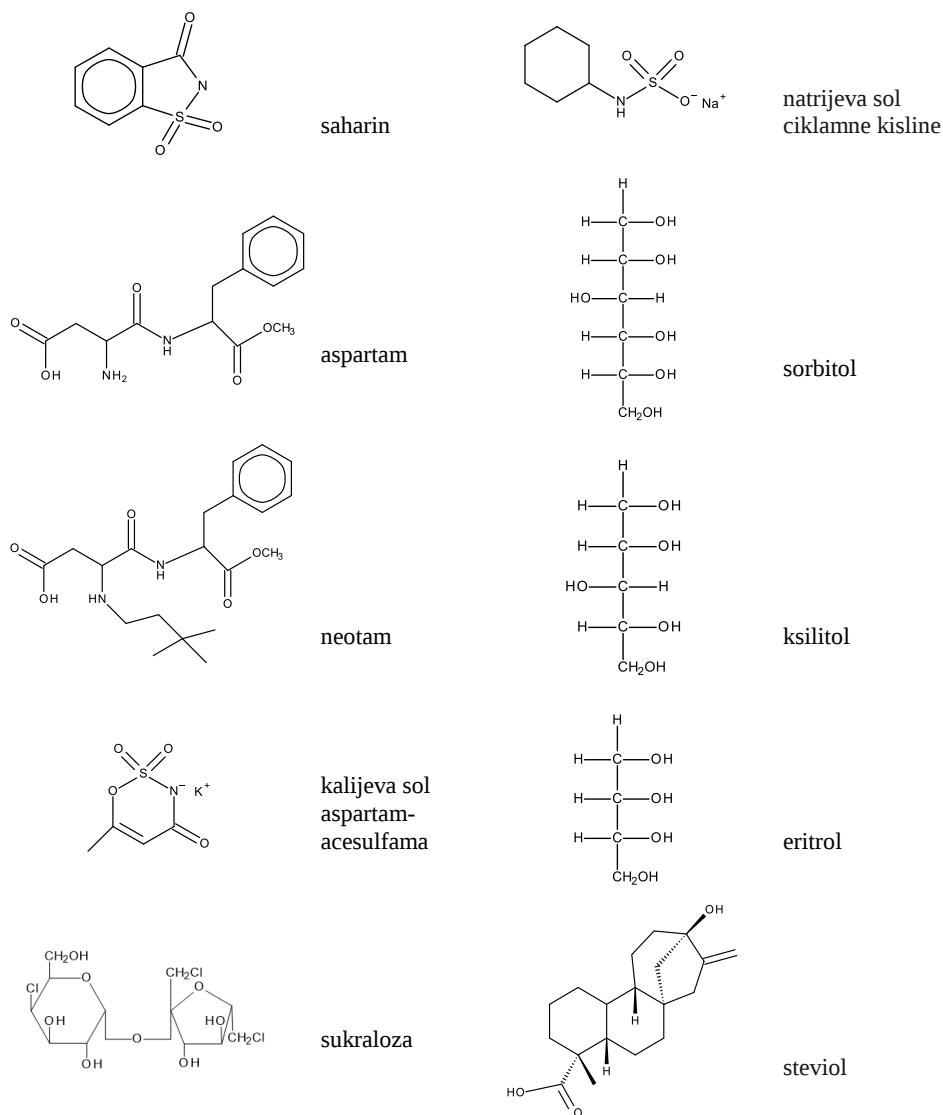
- nadomeščanje sladkorjev za proizvodnjo živil z zmanjšano energijsko vrednostjo, živil proti kariesu ali živil brez dodanih sladkorjev;
- nadomeščanje sladkorjev, če se s tem omogoči podaljšanje roka uporabnosti živil;
- proizvodnja živil za posebne prehranske namene (npr. sladkorni bolniki; živila, ki se zaradi specifične sestave ali načina proizvodnje bistveno razlikujejo od običajnih živil in ki so ustrezna zaradi njihovih zatrjevanih prehranskih namenov, in so dana v promet tako, da navajajo to ustreznost (Pravilnik o živilih za posebne prehranske namene, 2002).

V Uredbi (EU) št. 1129/2011 najdemo seznam sladil in živil, katerim se lahko dodaja sladila. Pri vsakem izmed njih je podana tudi največja dovoljena količina. Sladila z oznakami E 420, E 421, E 953, E 965, E 966, E 967 in E 968 lahko v živila dodajamo po načelu *quantum satis*, ostala sladila pa imajo predpisane največje dovoljene odmerke v posameznih živilih. Seznam se sčasoma dopolnjuje, in sicer so trenutno veljavne naslednje dopolnitve: Uredba komisije (EU) št. 1050/2012 (poliglicitol v sirupu, E964), Uredba komisije (EU) št. 497/2014 (advantam, E969) in Uredba komisije (EU) št. 2016/441 (steviol glikozidi, E960).

Preglednica 1: Seznam dovoljenih sladil v EU

E420	(i) Sorbitol (ii) Sorbitol v sirupu	E960	Steviol glikozidi
E421	Manitol	E961	Neotam
E950	Acesulfam K	E962	Soli aspartam-acesulfama
E951	Aspartam	E964	Poliglicitol v sirupu
E952	Ciklamna kislina ter njene natrijeve in kalcijeve soli	E965	(i) Maltitol (ii) Maltitol v sirupu
E953	Izomalt	E966	Laktitol
E954	Saharin ter njegove Na, K in Ca soli	E967	Ksilitol
E955	Sukraloza	E968	Eritritol
E957	Tumatin	E969	Advantam
E959	Neohesperidin DC		

Izmed trenutno dovoljenih sladil (preglednica 1, slika 1) je 7 sladkornih poliolov (sorbitol, manitol, izomalt, malitol, laktitol, ksilitol, eritritol), 2 sladili iz ekstraktov rastlin (tumat in steviol glikozidi) in 9 sladil, pridobljenih s kemijsko sintezo (acesulfam K, aspartam, ciklamna kislina ter njene Na in Ca soli, saharin ter njegove natrijeve, kalijeve in kalcijeve soli, sukraloza, neohesperidin DC, neotam, soli aspartam-acesulfama in advantam). Advantam je najnovejši na seznamu in je najslajša snov, saj je kar 20.000-krat slajši od sladkorja.



Slika 1: Strukturne formule različnih sladil

Saharin (E 954) so odkrili leta 1879 in je prvo znano brezkalorično sladilo. Je 300- do 500-krat slajši od saharoze. Dodajamo ga v brezalkoholne pijače, bombone, prehranska dopolnila in zobne paste. Nekaj časa je bil zaradi potencialnih negativnih učinkov na

zdravje na seznamu potencialno kancerogenih snovi, a so ga leta 200 s tega seznama umaknili.

Aspartam (E 951) je 200-krat slajši od namiznega sladkorja. Je ester dipeptida, zgrajen iz aminokislin asparaginske kisline in fenilalanina. Uporabljamo ga kot namizno sladilo in kot dodatek mnogim jedem (npr. žita za zajtrk, brezalkoholne pijače, slaščice, bomboni in žvečilni gumiji). Je najbolj pogosto uporabljano umetno sladilo. Aspartam izgubi sladkost med toplotno obdelavo. Ker se med prebavo hidrolizira do aminokislin, ni primeren za bolnike s fenilketonurijo, ki ne morejo presnavljati fenilalanina.

Neotam (E 961) je 8000- do 13000-krat slajši od namiznega sladkorja. Kemijsko je podoben aspartamu, le da je bolj stabilen in bolj sladek. Amino skupina asparaginske kisline je zaščitena s 3,3-dimetilbutilno skupino, ki preprečuje encimsko hidrolizo peptidne vezi med asparaginsko kislino in fenilalaninom. Sladilo dodajamo v brezalkoholne pijače, slaščice, žitne kosmiče, namaze na osnovi kakava pogost pa je tudi kot namizno sladilo.

Sol aspartam-acesulfama (E 962) je približno 200-krat slajša od saharoze in se običajno uporablja skupaj z drugimi sladili, saj živilu izboljša okus.

Sukraloza (E 955) je tudi eno izmed bolj popularnih sladil in je približno 600-krat slajša od saharoze. Je toplotno obstojna, zato se uporablja tako v toplih kot hladnih pijačah, pa tudi v pekovskih proizvodih.

Ciklamna kislina ter njene natrijeve in kalcijeve soli (E 952) so približno 40-krat slajši od saharoze. V ZDA je ta aditiv prepovedan, v Evropi pa se lahko uporablja v različnih izdelkih do največjega dovoljenega odmerka.

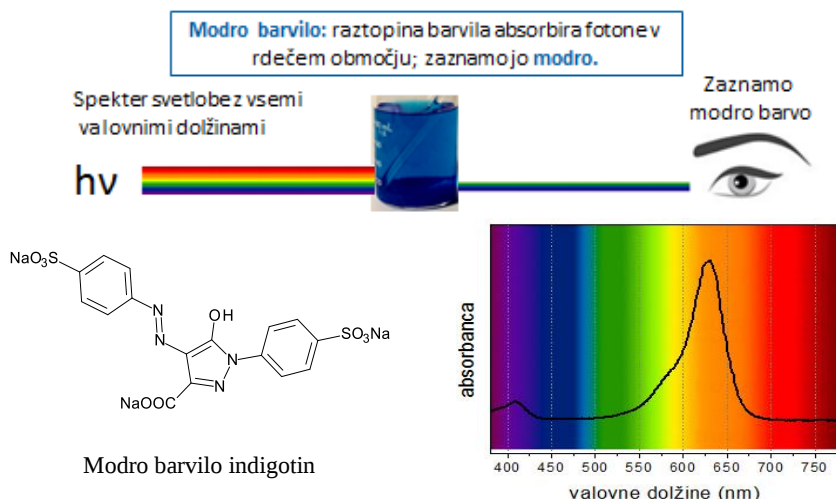
Sladkorni poliol (E 420, 421, 953, 965, 966, 967, 968) so naravni poliol (derivati mono-, di- ali polisaharidov), ki se nahajajo v sadju in zelenjavi, a jih kot aditive večinoma proizvajajo v laboratoriju s kemijski sintezo (sorbitol in ksilitol) ali s fermentacijo kvasovk (eritrol). Ker se le-ti v telesu slabše absorbirajo, dajejo telesu manj energije kot namizni sladkor. Večinoma so podobno ali manj sladki kot namizni sladkor, ne povzročajo zobne gnilobe in so primerni tudi za sladkorne bolnike. Sorbitol in ksilitol najdemo v bombonih brez sladkorja in žvečilnih gumijih.

Steviol glikozide (E 960) ekstrahirajo iz listov rastline *Stevia rebaudiana* Bertoni, sladilo je približno 300-krat slajše od saharoze.

2.2 BARVILA

Zaznavanje barv pomembno vpliva na zaznavanje sveta. Vsi poznamo občutek optimizma in delovnega elana, ki nas prevzame na lep sončen dan, ko je svet ožarjen z jasnimi čistimi barvami in utrujenost in pomanjkanje energije ob sivih, deževnih dneh. Tako tudi barvo živil povezujemo s svežostjo in kakovostjo živila, pričakovan videz živila pa sproži tudi zaznavo okusa. Barvila kot aditive se živilom dodaja zaradi privlačnosti živila za potrošnika, zaradi nadomeščanja bledenja živila ob izpostavljenosti svetlobi, zraku, ekstremnim temperaturam in vlagi, zaradi nadomeščanja bledenja barve pri predelavi živila, za poenotenje naravnih razlik v barvi živila, za ojačenje naravnih barv in za hitro prepoznavanje izdelka (sladkarije, barve tablet). Barvila za živila so morda najbolj sporna vrsta aditivov, saj se z njimi lahko zakriva slaba kakovost živila in zaradi pisanih in intenzivno obarvanih živil namenjenih otrokom.

Ljudje običajno zaznavamo barvo zaradi razmerja zastopanosti fotonov različnih valovnih dolžin vidnega dela elektromagnetnega spektra (Newsome, 2014). Kadar so v žarku, ki pade na mrežnico, zastopani fotoni vseh valovnih dolžin od nekje 380 nm do 780 nm v podobnem razmerju kot v sončni svetlobi, vidimo snov belo. Kadar pa del fotonov v žarku manjka, zaznavamo snov obarvano. Modro barvo zaznavamo, kadar snov absorbira rdečo svetlobo. Za modro barvilo indigotin (indigo karmin) je proces zaznavanja prikazan na sliki 2.



Slika 2: Proces zaznavanja in absorpcijski spekter vodne raztopine barvila indigotin

Likopen absorbira fotone v modrem delu svetlobe, prepušča pa rdečo in snovi, ki vsebujejo likopen, vidimo rdeče (preglednica 2). Klorofil a, ki absorbira rdečo in modro svetlobo, zaznavamo kot zelenega. Antocianine zaznavamo rdeče vijolične, ker absorbirajo zelene dele spektra. V preglednici 2 je seznam valovnih dolžin in absorbiranih delov spektra vidne svetlobe (valovne dolžine, barva) in zaznava različnih barv.

Preglednica 2: Območja absorbiranih delov spektra vidne svetlobe in zaznava barve (Newsome, 2014)

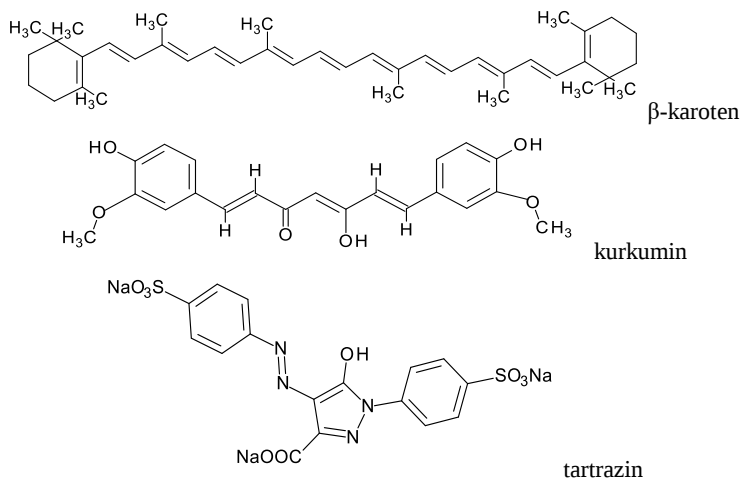
Območje absorbirane svetlobe (nm)	Absorbirana barva	Zaznava barve
400-435	vijolična	rumeno-zelena
435-480	modra	rumena
480-490	zeleno modra	oranžna
490-500	modro zelena	rdeča
500-560	zelena	rdeče vijolična
560-580	rumeno-zelena	vijolična
580-595	rumena	modra
595-605	oranžna	zeleno modra
605-700	rdeča	modro zelena

V manjši meri pa barvo zaznamo tudi zaradi luminiscence (fluorescence, fosforescence), ko neka snov oddaja fotone določene valovne dolžine v vidnem delu elektromagnetnega spektra ali zaradi lomljenja in sipanja svetlobe.

Razlog, da nekatere spojine absorbirajo elektromagnetno valovanje v vidnem delu, je v strukturi spojin. Foton se absorbira, kadar energija fotona ($E=h\nu$) ustreza energiji

vzbujanja elektronov v orbitalah molekule. Pri absorpciji elektron preide iz osnovnega na višji energijski nivo - elektron preide v vzbujeno stanje. Večina elektronov absorbira v ultravijoličnem delu spektra, le za nekatere prehode elektronov je potrebno manj energije in ti prehodi potekajo s fotoni vidne svetlobe. Spojine, ki v svoji strukturi vsebujejo konjugirane dvojne vezi, absorbirajo valovne dolžine 400-500 nm in te snovi vidimo kot rdeče, oranžne in rumene. Primer teh barv so karotenoidi. Za absorpcijo valovnih dolžin 600-700 nm pa so značilni konjugirani sistemi, ki imajo v strukturi vezano še aromatske in heteroaromske skupine in heteroatome (aminsko, hidroksilno, nitro, sulfatno itd. skupino, halogene elemente...) (Newsome, 2014).

Struktura rumenih barvil, ki so dovoljena za uporabo v živilstvu, je zelo raznolika: od likopena z enajstimi konjugiranimi dvojnimi vezmi, kurkumina z dvema aromatskima obročema povezanima s konjugiranimi vezmi in šestimi kisikovimi atomi v hidroksilnih, eterskih in okso skupinah, do tartrazina, ki je azo barvilo z dvema sulfatnima in eno karboksilatno skupino (slika 3).

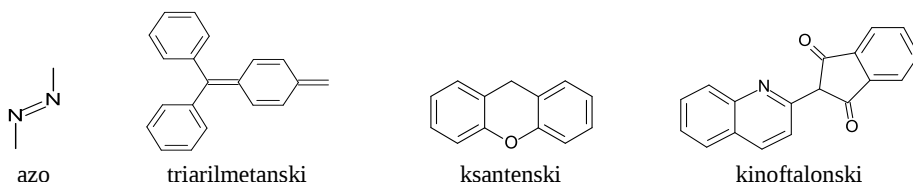


Slika 3: Strukturne formule različnih barvil, ki jih zaznavamo v rumenih odtenkih

Sintetična barvila

V EU je v živilih dovoljena uporaba 17 sintetičnih barvil, v ZDA pa 7. S sintetičnimi barvili lahko proizvajalci dosežejo različne odtenke barv, barve so jasne in čiste. Barvila so dobro stabilna pri različnih pogojih uporabe in topna v vodi. Tudi z zdravstvenega vidika so zaradi dvomljivega slovesa že dolgo podvržena nadzoru in regulativi. Glede na strukturo (slika 4) dovoljena umetna barvila uvrščamo v 5 skupin (Carocho in sod., 2014):

- azo barvila (tartrazin (E 102, slika 3), oranžno FCF (E 110), rdeče AC (E 129), amarant (E 123), azorubin (E 122), rjavo HT (E 155), rubin BK (E 180))
- barvila s triarilmetansko skupino (modro FCF (E 133), modro V (E 131), črno PN (E 151), zeleno S (E 142))
- barvila s ksantensko skupino (eritrozín (E 127), eosin in rodamin)
- derivati kinofthalona (kinolinsko rumeno (E 104))
- indigo barvila (indigotin (indigo karmin) (E 132) (slika 2))



Slika 4: Značilni strukturni elementi umetnih barvil

Naravno identična barvila

Izmed naravnih barvil se najpogosteje sintetizira karotenoide (β -karoten (E 160a), β -apo-8'karotenal (E 160e), ribolfavin (E 101) in kantaksantin (E 161g) (Saltmarsh, 2013).

Naravna barvila

V vsakdanji prehrani zaužijemo veliko količino naravnih barvil, saj so sadje, zelenjava in druga živila naravno obarvana s široko paleto barv zaradi klorofilov, karotenoidov, antocianinov in drugih barvil. Naravna barvila imajo zelo različne kemijske in fizikalne lastnosti, so manj stabilna, bolj občutljiva na oksidacijo, pH in svetlobo; njihova topnost je zelo različna. Poleg tega za naravna barvila velja, da so manj intenzivna in jih je v živilo potrebno dodati večjo količino. Z naravnimi barvili proizvajalci dosežejo bolj zabrisane tone, izdelki so videti manj »pobarvani«.

Splošno je prepričanje, da so naravna barvila z zdravstvenega vidika boljša in potrošniki zahtevajo njihovo uporabo namesto sintetičnih. Zavedati pa se moramo, da je večina naravnih barvil manj natančno testirana kot umetna. V Evropi so naravna barvila podvržena enakim pravilom za legalizacijo kot umetna in tudi njihova uporaba je omejena z ADI indeksom. V EU je dovoljenih 13 in v ZDA 26 iz narave pridobljenih barvil (Scotter, 2011)

Poleg tega je marsikatero naravno barvilo hkrati tudi prehransko obogati živilo, saj deluje še kot antioksidant, vir vitamina... (beta karoten, riboflavin...) (Saltmarsh, 2013).

Sestavine živila s funkcijo barvanja; »Colouring foodstuffs«

Poleg naravnih barvil se živilom lahko dodaja sestavine živila, ki imajo tudi funkcijo barvanja. Takšni izvlečki, ki se pridobivajo iz rdeče pese, rdečega zelja, črnega korena, limone, hibiskusa itd., se živilom dodaja zaradi izboljšanja okusa ali prehranskih lastnosti, poleg tega pa živilo še obarvajo. Meja med naravnim barvilom in ekstraktom živila je zabrisana. Tako lahko iz špinače s selektivno ekstrakcijo pridobimo zeleno barvilo klorofil (E 140) ali z neselektivno ekstrakcijo špinačno pasto ali koncentrat. Špinačni koncentrat dodan v živilo se obravnava kot sestavino živila in ne kot aditiv. Tudi ekstrakt alge spirulina, naravni dodatek, ki obarva živila modro, se zaenkrat obravnava kot sestavino živila s funkcijo barvanja (colouring foodstuff). To področje urejajo priporočila evropske komisije z dne 29. 11. 2013 (Scotter, 2011; Oplatowska-Stachowiak in Elliot, 2017). V »organskih ali bio« živilih se lahko dodaja samo barvila iz te skupine. Proizvajalci pa lahko izjemoma zaprosijo tudi za uporabo naravnih barvil.

Karamel barvila

Izraz karamel se nanaša na izdelke bolj ali manj izrazite rjave barve, ki se uporabljajo za barvanje, ne pa na izdelke, ki se uporabljajo za aromatiziranje živil. Štejemo jih med barvila naravnega izvora. Karamel se pridobiva iz sladkorjev s segrevanjem pri višjih temperaturah. Pri pridobivanju se dodaja lahko tudi sulfite in/ali amonijak. Pri postopku

nastajajo tudi toksične snovi, kot so derivati furana in imidazoli (Sengar in Kumar, 2014).

Anorganski pigmenti

Pigmenti so netopna barvila. V skupini je 9 barvil. Barvila aluminij (E 173), srebro (E 174), zlato (E 175) in litol rubin (E 180) se v nekaterih razvrstitvah navajajo med umetnimi barvili, titanov dioksid (E 171) pa med barvili pridobljenimi iz narave. V skupini je še sajasto črno (rastlinsko oglje) (E 153), kalcijev karbonat (E 170) in železovi oksidi in hidroksidi (E 172).

2.3 KONZERVANSI

Po evropski zakonodaji, Uredbi (ES) št. 1333/2008, so konzervansi spojine, »ki podaljšajo rok uporabnosti živil tako, da jih ščitijo pred kvarjenjem, ki ga povzročajo mikroorganizmi, in/ali jih ščitijo pred razvojem patogenih mikroorganizmov«. Konzervansi omogočajo tudi podaljšan rok uporabnosti nekaterim živilskim izdelkom. Učinkovine, ki bi delovala kot univerzalni konzervans, ni. Mikroorganizmi, ki povzročajo kvar živil (kvarljivci) in patogeni mikroorganizmi, imajo namreč različno fiziologijo in mehanizme odpornosti. Uporaba konzervansov z namenom podaljšanja roka uporabnosti živila ni iznajdba današnjega časa in napredne živilske industrije. Soli in začimbe so se uporabljale pri obdelavi živil za skladiščenje že v obdobjih pred iznajdbo hladilnikov.

V EU dovoljeni konzervansi so navedeni v Uredbi Komisije (EU) št. 1129/2011 v Prilogi II v Seznamu skupnosti aditivov za živila, odobrenih za uporabo v živilih, in pogojih uporabe, v delu B pod točko 3. Aditivi razen barvil in sladil. Dovoljeni konzervansi so sorbinska kislina in sorbat, benzojska kislina in benzoati, žveplov dioksid in sulfiti, nitrati, nitriti, nizin, natamicin, parabeni, dimetil dikarbonati, lizocim in mešanice protimikrobnih sredstev. Lahko se pridobijo s kemijsko sintezo ali pa izolirajo iz naravnih virov.

V tem poglavju bodo povzeti mehanizmi protimikrobnega delovanja le za nekatere konzervanse.

Mehanizem protimikrobnega delovanja šibkih organskih kislin

Najbolj pogosto uporabljene šibke organske kisline so sorbinska (E 200), očetna (E 260), propanojska (E 280) in benzojska kislina (E 210) (slika 5).

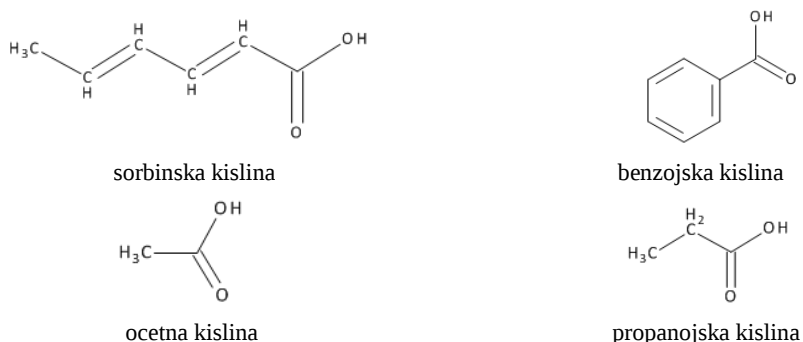
Sorbinska kislina ((2E,4E)-2,4-heksadienojska kislina) z molekulsko formulo $C_6H_8O_2$ in molsko maso 112,12 g/mol, je nenasičena maščobna kislina. pK_a sorbinske kisline je 4,76 pri 25 °C, je slabo topna v vodi (0,16 g/100 mL pri 20 °C), boljje topna v etanolu (10 g/100 mL pri 20 °C)

(http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1748891.htm).

Sorbinska kislina je naravno prisotna v nezrelih jagodah navadne jerebike (*Sorbus aucuparia*). Za komercialno uporabo se sintetizira iz aldehida (trans-2-butenala) in malonske (propandiojske) kisline. Zaradi večje topnosti v vodnih medijih so kot konzervans bolj uporabne njene kalijeve, natrijeve in kalcijeve soli, najbolj kalijev sorbat. Topnost kalijevega sorbata v vodi je 58,2 g/100ml pri 20 °C (O'Neil, 2013).

Za šibke kisline je značilno, da v vodnih raztopinah ne disociirajo popolnoma. Razmerje med nedisociirano in disociirano obliko je odvisno od pH vodne raztopine. pK_a je pH pri

katerem je v vodni raztopini enak delež nedisociirane oblike kisline in disociirane (anionske) oblike. V preglednici 3 so zapisane vrednosti pK_a organskih kislin, ki se najpogosteje uporabljajo kot konzervansi.



Slika 5: Strukturne formule organskih kislin, ki se uporabljajo kot konzervansi

Preglednica 3: pK_a vrednosti organskih kislin - konzervansov

Ime organske kisline	pK_a
Sorbinska kislina	4,76
Benzojska kislina	4,19
Ocetna kislina	4,76
Propanojska kislina	4,87

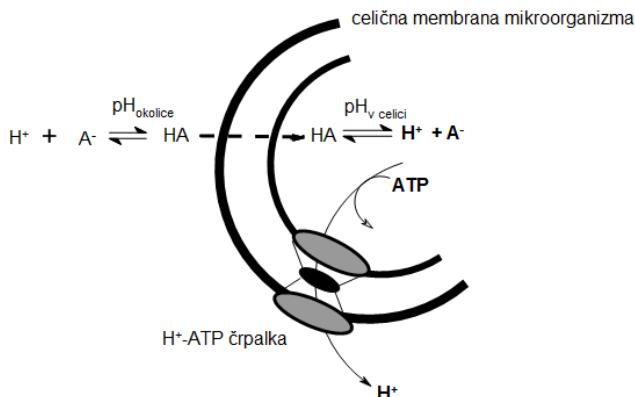
Pri pH vrednostih, ki so nižje od pK_a podanih kislin, prevladujejo v vodnih raztopinah nedisociirane oblike kisline. Splošno privzeta teorija inhibicije rasti mikroorganizmov s kislinskimi konzervansi je, da nedisociirana oblika kisline lahko zaradi pH gradienta prehaja, difundira, preko celične membrane mikroorganizmov v notranjost celice. V celici mikroorganizmov je višji pH, posledično pride do disociacije kislin. Nastale anionske oblike in protoni pa ne prehajajo prosto preko celične membrane. Posledica akumulacije nastalih ionskih oblik v celici mikroorganizmov je inhibicija rasti mikroorganizmov (Brul in Coote, 1999), kar se odraža v podaljšani lag fazi rasti mikroorganizma, ki lahko traja od nekaj dni do nekaj tednov, prirast mikrobne biomase pa je zelo majhna. pH vrednost citoplazme se zaradi nastalih protonov pri disociaciji kisline v citoplazmi zniža. Znižanje pH pa lahko vpliva na inhibicijo glikolize, inhibicijo aktivnega transporta, ali pa vpliva na signalno transdukcijo. Organske kisline, konzervansi, učinkujejo inhibitorno na rast kvasovk, plesni in na manjše število bakterij pri nizkem pH.

Preglednica 4: Inhibitorno delovanje sorbatov (izraženo kot minimalna inhibitorna koncentracija, MIC) na različne kvasovke in plesni (povzeto po Thomas in Delves-Broughton, 2014)

	Mikroorganizem	pH	MIC (ppm)
Kvasovke	<i>Yarrowia lipolytica</i>	5,0	100
	<i>Rodotorula sp.</i>	4,0-5,0	100-200
	<i>Saccharomyces sp.</i>	3,0	30-100
	<i>Aspergillus niger</i>	2,5-4,0	100-500
Plesni	<i>Bortrytis cinerea</i>	3,6	120-250
	<i>Cladosporium sp.</i>	5,0-7,0	100-300
	<i>Fusarium sp.</i>	3,0	100
	<i>Mucor sp.</i>	3,0	10-100
	<i>Penicillium sp.</i>	3,5-5,7	20-1000

V nasprotju z veljavno teorijo inhibitornega delovanja kislinskih konzervansov pa po novejših raziskavah (Stratford in sod., 2013) sorbinska in ocetna kislina, kljub enaki pK_a

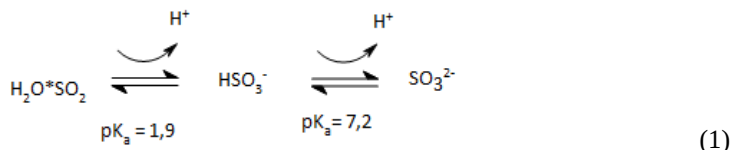
vrednosti, ne delujeta enako inhibitorno pri ekvimolarnih koncentracijah na kvasovko *Saccharomyces cerevisiae*. Raziskovalci so ugotovili, da je za inhibicijo rasti 25 sevov kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* potrebna 42-krat višja koncentracija očetne kisline v primerjavi s sorbinsko kislino. Inhibicija rasti s sorbinsko kislino je namreč povezana z inhibicijo H^+ -ATP protonske črpalke (slika 6).



Slika 6: Preko celične membrane lahko difundira le nedisociirana oblika kisline, anioni se zadržijo v celici, nastale protone pa membranska H^+ -ATP protonska črpalka izloči iz celice (prirejeno po Lambert in Stratford, 1999).

Mehanizmi protimikrobnega delovanja SO_2 in sulfitov

Žveplov dioksid (E 220) je brezbarvni, nevnetljiv plin z močnim, dušecim vonjem. Pri raztapljanju v vodi je velik delež žveplovega dioksida v obliki hidratiziranih molekul, manjši delež pa reagira protolitsko (enačba 1).

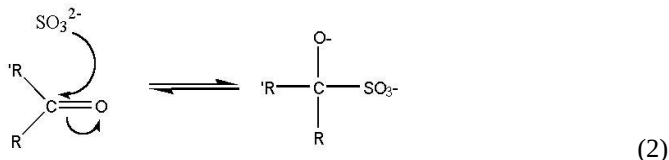


Kot konzervans se poleg žveplovega dioksida uporabljajo tudi natrijevi, kalijeви in kalcijevi sulfiti: Na_2SO_3 (E 221), $NaHSO_3$ (E 222), $KHSO_3$ (E 228), $CaSO_3$ (E 226), $Ca(HSO_3)_2$ (E 227), $Na_2S_2O_5$ (E 223), $K_2S_2O_5$ (E 224). Natrijev hidrogensulfit ($NaHSO_3$) nastane pri uvajanju žveplovega dioksida v raztopino NaOH, natrijev sulfit (Na_2SO_3) pa v reakciji $NaHSO_3$ z NaOH. Natrijev metabisulfit ($Na_2S_2O_5$) nastane s sušenjem $NaHSO_3$ pri 105 °C, pri čemer poteče kondenzacija HSO_3^- ionov.

Na kvasovke in plesni delujejo sulfiti protimikrobno pri nizkem pH in nizki a_w v živilih, ter protibakterijsko na Gram-negativne bakterije pri višjem pH in višji a_w vrednosti v živilih. Učinkovitost inhibicije rasti mikroorganizmov narašča z nižanjem pH. Pri $pH < 3$ prevladuje nedisociirana oblika, $H_2O \cdot SO_2$.

Najbolj pomemben mehanizem protimikrobnega delovanja sulfitov je povezan z nukleofilno aktivnostjo same sulfidne skupine. Kot nukleofili lahko sulfidni ioni reagirajo s karbonilno skupino (enačba 2), pri čemer nastanejo C-sulfonati. Te reakcije lahko potečejo s karbonilnimi skupinami na proteinih, substratih/produktih encimsko kataliziranih metabolnih reakcij. S tem se seveda spremeni nativna konformacija

proteinov, spremenjeni substrati in produkti encimsko kataliziranih reakcij pa vplivajo na spremembo aktivnosti metabolnih encimov, pri čemer pride tudi do inhibicije encimov osnovnega metabolizma mikroorganizma.



Nukleofilna adicija sulfitne skupine lahko poteče tudi v reakciji sulfitov s kofaktorji encimov, ki katalizirajo glavne metabolne poti. Sulfitna skupina lahko tako reagira s kofaktorji kot so piridoksal fosfat, flavin (FAD, FMN), hem, tiamin pirofosfat, folat. Produkti reakcije s sulfitno skupino inhibirajo encime.

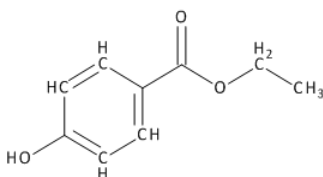
Preglednica 5: Nekateri koencimi, s katerimi reagirajo sulfiti v nukleofilni adiciji

Koencim	Piridoksal fosfat	Flavinadenin dinukleotid (FAD)	Tetrahidrofolna kislina
Strukturna formula			
Vloga koencima	prenos amino skupin	oksidoredukcijske reakcije	prenos skupin z enim C atomom
Vpliv na encime	transaminaze	flavoproteini (oksidaze, reduktaze, hidroksilaze, dehidrogenaze)	pri sintezi aminokislin in pirimidinskih oz. purinskih baz

Z nukleofilno adicijo sulfita lahko pride do modifikacije na citozinu, uracilu in adeninu v tRNA in mRNA, posledica pa je inhibicija translacije. Pirimidinske baze v DNA se lahko tudi modificirajo s sulfitom ali pa v sintezo DNA vključeni encimi. Tarčne molekule za reakcijo s sulfiti so tudi membranski lipidi in proteini (Gould in Russell, 2003).

Mehanizmi protimikrobnega delovanja parabenov

Med parabene uvrščamo metilni, etilni, propilni, butilni, heptilni in benzilni ester 4-hidroksibenzojske kisline. Kot protimikrobna sredstva se sicer redko uporabljajo v živilih, če pa se, pa uporabljajo metilparaben (E 218) in natrijeva sol (E 219) ter etilparaben (E 214) in natrijeva sol (E 215).

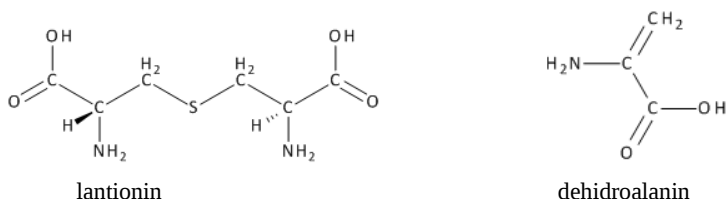


Slika 7: Strukturna formula etilparabena

Parabeni delujejo protimikrobno pri pH med 3 in 8. Njihovo protimikrobno delovanje je povezano s povečanjem prepustnosti v celični membrani mikroorganizmov, zaradi česar pride do izhajanja snovi iz celic. Poškodbe celične membrane najverjetneje nastanejo zaradi interakcij parabenov s fosfolipidi v celični membrani, kar povzroči spremembo v strukturi membrane, ki pa je odvisna tako od alkilnega repa parabena kot tudi od tipa fosfolipidov v membrani (Flasinski in sod., 2016). Parabeni delujejo protimikrobno na kvasovke in plesni. Z daljšanjem alkilne verige v parabenih je tudi protimikrobna učinkovitost večja, vendar pa se manjša tudi topnost. Butilparaben je 4-krat bolj protimikrobno učinkovit kot etilparaben, topnost butilparabena pa je 12-krat manjša od etilparabena (Flasinski in sod., 2016).

Mehanizmi protimikrobnega delovanja aktivnega polipeptida nizina

V EU sta v funkciji konzervansa dovoljena dva antibiotika, nizin (E 234) in natamicin (E 235). Bakteriocid nizin je naravni polipeptid, ki ga izloča mlečnokislinska bakterija *Lactococcus lactis*. Nizin uvrščamo v skupino lantibiotikov, to so spojine, ki vsebujejo nenavadno aminokislino lantionin (Lan) (slika 8). Polipeptidna sekvence nizina vsebuje štiri nenavadne aminokisliline, ki se povezujejo s tioeterskimi vezmi, in nobene aromatske aminokisliline. Nizin je hidrofoben, termostabilen polipeptid. Obstaja več oblik polipeptida, A, Z in Q, od katerih pa sta komercialno najbolj uporabni obliki A in Z. Obliki A in Z se razlikujeta v aminokislinskih sekvenci na položaju 27. Oblika A ima na položaju 27 aminokislino histidin, oblika Z pa asparagin. Ta razlika vpliva na razliko v termostabilnosti, vplivu pH in občutljivosti na proteolitične encime (Gharsallaoui in sod., 2015).



Slika 8: Strukturni formuli dveh nenavadnih aminokislin v antibiotiku nizinu

Topnost nizina v vodnih raztopinah je pri pH 2,5 12 % (w/w), pri pH 4 je samo še 4 %, pri nevtralnem pH pa je že praktično netopen. Protimikrobno delovanje nizina je povezano tudi s pH vrednostjo raztopin, večja je pri nizkem pH. V območju pH od 1 do 8 je neto naboj aktivnega peptida pozitiven. Encim izgubi stabilnost po daljšem segrevanju, je pa stabilen pri temperaturah zamrzovanja živil. Tioeterske vezi z neobičajnimi aminokislinami vplivajo na termostabilnost, pri nizkem pH je večja kot pri nevtralnem in višjem pH. Peptidne vezi v nizinu lahko hidrolizirajo proteaze, ki jih izloča pankreas, vendar ne tripsin, tudi ne pepsin in karboksipeptidaze. (Gharsallaoui in sod., 2015)

Nizin se najprej adsorbira na celično steno Gram-pozitivnih bakterij s hidrofobnimi in elektrostatskimi interakcijami z negativno nabitimi spojinami v celični steni kot so tejhojska, lipotejhojska kislina, nabiti polisaharidi, hidrofojni terminalni konec nizina pa omogoči vrivanje v lipidno membrano, kjer pride do interakcije z lipidom II, ki je prekurzor sinteze peptidoglikanske stene. Interakcija nizina z lipidom II prepreči

vključevanje peptidoglikanskega monomera v peptidoglikansko mrežo, s tem pa se prepreči sinteza celične stene Gram-pozitivnih bakterij. Drugi mehanizem delovanja nizina je, da nizini z lipidom II tvorijo transmembranske pore, preko katerih pride do izhajanja majhnih molekul iz celic. Posledica izstopanja molekul iz celice je celična smrt (Punyaappa-path in sod., 2015).

2.4 ANTIOKSIDANTI

Praktično vse organske molekule, ki sestavljajo neko živilo, so v kisikovi atmosferi nestabilne in se lahko oksidirajo. Strukturne spremembe povezane z oksidacijo imajo pogosto velik vpliv na funkcionalne, senzorične in prehranske lastnosti živil, nekateri oksidirani produkti so tudi zdravju škodljivi. Posledično obstaja velik interes, da se proces oksidacije čim bolj upočasni, tako med procesiranjem živil, kakor tudi med skladiščenjem proizvodov.

Najbolj radikalen pristop je izključitev kisika iz sistema, v katerem se nahaja živilo. Vakumiranje živil, pakiranje v modificirano atmosfero brez kisika, ali vključevanje porabnikov kisika v embalažo so možni pristopi, ki pa so učinkoviti le v nekaterih primerih. Drage tehnološke rešitve, visoka učinkovitost oksidacije že pri nizkih parnih tlakih, majhne K_M vrednosti za kisik nekaterih oksidoreduktaz, ter nenazadnje dejstvo, da v nekaterih živilih, ki vsebujejo metabolno aktivne celice, kisika ne smemo zmanjšati na zelo nizke vrednosti, v praksi pomenijo, da najučinkovitejši pristop predstavlja dodatek aditivov, ki delujejo kot antioksidanti v živilih.

V formalnem smislu so aditivi, ki delujejo kot antioksidanti, razvrščeni v skupino »antioksidantov in regulatorjev kislosti« s pripadajočimi E-številskimi od 300 do 399. Zaradi različnih mehanizmov delovanja in dejstva, da imajo nekateri aditivi različne funkcije, pa najdemo antioksidante tudi v drugih skupinah aditivov.

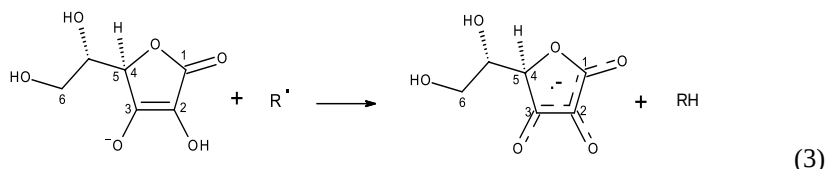
Ključni mehanizmi delovanja antioksidantov v živilih vključujejo:

- stabilizacijo prostih radikalov in redukcijo delno oksidiranih komponent živil,
- keliranje železovih in bakrovih ionov, ki so močni prooksidanti,
- inhibiranje encimov, ki katalizirajo redoks reakcije (za polifenole in lipide).

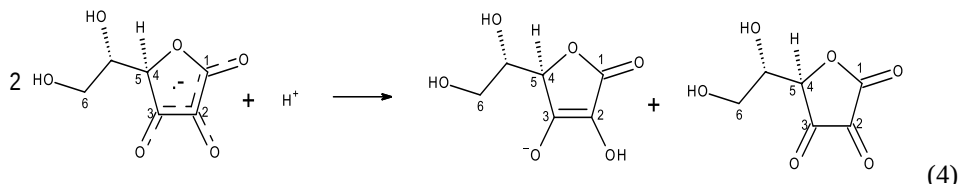
Reducenti in stabilizatorji radikalov

Aditivi, ki delujejo kot stabilizatorji prostih radikalov in reducenti, predstavljajo najpomembnejšo skupino aditivov v okviru antioksidantov. V to skupino prištevamo različne derivate askorbinske (E 300 - E 305) in eritrobinske kisline (E 315 - E 318), tokoferole (E 306 - E 309), derivate galne kisline (E 310 - E 313), butilirane fenolne spojine (E 319 - E 321), nitrite (E 249 - E 251), sulfite (E 220 - E 228) in kompleksne mešanice fenolnih spojin (E 314, E 392).

Ko antioksidant reagira s prostim radikalom ($R^\cdot$) in ga stabilizira, sam postane radikal (enačba 3). Za razliko od nizkomolekulskih reaktivnih kisikovih zvrsti, so radikalske oblike antioksidantov s konjugiranimi dvojnimi vezmi ali aromatskimi obroči resonančno stabilizirane in tako kemijsko precej manj reaktivne, kar je ključno za njihovo funkcionalnost.



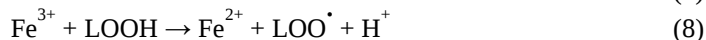
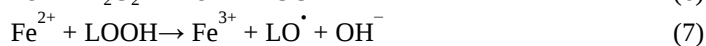
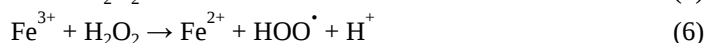
Koncentracija radikalov v sistemu se dodatno zmanjša, ko pride do prenosa elektronov med istovrstnimi radikaloma in se v reakciji disproporcionacije tvorita oksidirana in reducirana oblika vitamina C (enačba 4).



Fenolne spojine v živilih se v kisikovi atmosferi oksidirajo do neradikalnih produktov, kinonov, ki dajejo živilom pogostokrat nezaželeno rjavo barvo. Nekateri antioksidanti, kot so npr. sulfiti, lahko te molekule reducirajo nazaj do fenolnih spojin, kar je osnovni mehanizem njihovega antioksidativnega delovanja. Nekatere aditive dodamo tudi z namenom regeneracije oksidiranih oblik drugih aditivov. Tipičen primer predstavlja par askorbinska kislina in tokoferol. Tokoferol je primarni antioksidant v lipidnih sistemih, ki se po stabilizaciji reaktivnih radikalov zvrsti pretvori v tokoferilni radikal. Le tega potem askorbinska kislina na fazni meji regenerira v tokoferol (Choe in Min, 2009). Zaradi tega mehanizma je askorbinska kislina pomemben antioksidant tudi v z lipidi bogatih živilih. Askorbinsko kislino se dodaja v živila tudi kot sredstvo za generiranje antioksidantov *in situ*. Nitrit, ki je pomemben aditiv v mesnih izdelkih, askorbinska kislina reducira v NO, ki je relativno stabilen radikal. Reakcija NO z reaktivnimi radikali rezultira v tvorbi neradikalnih produktov, kar pomembno prispeva k zmanjšanju procesov oksidacije (Skibsted, 2011).

Kelatorji

Redoks aktivni ioni $\text{Cu}^{+/2+}$ in $\text{Fe}^{2+/3+}$ lahko že v nanomolarnih koncentracijah močno pospešijo oksidacijo, saj vstopajo v redoks reakcije z vodikovim peroksidom (H_2O_2) in delujejo kot katalizatorji pri generiranju prostih radikalov, ki potem kemijsko modificirajo komponente živil. Kovinski ioni lahko delujejo tudi kot prooksidanti v maščobah, saj katalizirajo tako tvorbo hidroperoksilnih radikalov ($\text{LOO}^\bullet$) kot razgradnjo lipidnih hidroperoksidov (LOOH) na alkoksilne radikale ($\text{LO}^\bullet$) (Damodaran in sod., 2007). Kot je razvidno iz zapisa Fentonove reakcije (enačbe 5 do 8), se kovinski ioni ne porabljajo, saj tako reducirana kot oksidirana oblika generirata proste radikale.



Koncentracijo prostih kovinskih ionov lahko učinkovito zmanjšamo z dodajanjem kelatorjev. V živila za ta namen dodajamo različne citrate (E 330 - E 333), fosfate (E 338 - E 340) ali EDTA (E 385 - E 386), ki lahko tvorijo močne komplekse z redoks

aktivnimi ioni in tako upočasnijo tvorbo radikalov. Na učinkovitost kelatorjev ima velik vpliv tudi pH, saj le ionizirane oblike kislin vežejo kovinske ione. Če je pH nižji od ustreznih pK_a vrednosti kislin, se učinkovitost kelatorjev precej zmanjša. K večji izpostavljenosti oksidaciji pri nižjem pH prispeva tudi večja topnost kovinskih ionov v kislem, saj so kovinski hidroksidi zelo slabo topni in se pri višjem pH obarjajo. Nizek pH, ki privede do denaturacije hem vsebujočih proteinov in oksidoreduktaz, ki v aktivnem centru vsebujejo redoks aktivne ione, lahko rezultira k povečani koncentraciji le teh v raztopini in hitrejši oksidaciji pri nižjem pH. NO, ki tvori močne komplekse s prostimi železovimi ioni in hemom, pomembno prispeva k upočasnitvi oksidacije v mesnih izdelkih (Kanner in sod., 1984).

Inhibitorji oksidoreduktaz

Med dejavniki, ki lahko močno pospešijo oksidacijo v živilih so tudi nekateri encimi. To velja predvsem za polifenol oksidaze, ki pospešujejo oksidacijo fenolnih substratov in so ključne za encimsko porjavenje sadnih in zelenjavnih izdelkov. Porjavenje lahko zmanjšamo že s predhodno omenjenimi pristopi, ki temeljijo na dodatku reducentov in kelatorjev. V formalističnem smislu lahko med aditive, ki upočasnijo oksidacijo polifenolov, štejemo tudi vse kisline, s katerimi zmanjšamo pH živila do nivoja, ko encim ni več aktiven. Nekatere spojine, kot so sulfiti, askorbinska kislina in cistein (E 920), pa se lahko vežejo tudi direktno v aktivno mesto encima in delujejo kot komeptitivni inhibitorji (Dinga in sod., 2002). V lipidnih matriksih lahko reakcije oksidacije močno pospešijo tudi lipooksigenaze, ki katalizirajo vključevanje kisika v večkrat nenasičene maščobne kisline, kar vodi do nastanke hidroperoksidov, primarnih produktov lipidne oksidacije. V aktivno mesto lipooksigenaz se lahko vežejo različni karotenoidi (E 160 - E 161) in kurkumin (E 100) ter tako upočasnijo encimsko katalizirano oksidacijo (Skrzypczak-Jankun in sod., 2000).

Oksidanti

Upočasnitev reakcij oksidacije je eden od najpomembnejših ciljev, ki jih želimo doseči pri procesiranju živil. Obstajajo pa seveda izjeme, saj v nekaterih primerih dodajamo aditive z namenom pospeševanja procesov oksidacije. Tipičen primer so pekovski izdelki, kjer je kovalentno povezovanje gluteninov preko disulfidnih vezi ključno za oblikovanje zelene strukture. Tvorbo disulfidnih vezi stimulirajo prisotni oksidanti, kot so različni jodati (E 916 - E 917) in bromati (E 924), ki pa so v EU prepovedani. Danes se v ta namen v testo dodaja askorbinska kislina, ki se med zamesom kvantitativno oksidira v dehidroaskorbinsko kislino. Le ta deluje nato kot oksidant, ki posredno poveča zamreženost glutenske frakcije z disulfidnimi vezmi, kar ključno prispeva k večjemu volumnu in rahlosti izdelkov.

V zadnjem času obstaja velik interes, da bi nekatere sintetične antioksidante zamenjali s kompleksnimi mešanici predvsem polifenolnih antioksidantov iz naravnih virov. Z izjemo ekstrakta rožmarina in smole drevesa gvajak, pa še niso pridobili ustrezne potrditve, da se jih lahko uporablja kot aditive. Seveda se lahko v živila dodajo v obliki marinad ali izvlečkov in ne kot deklarirani aditivi, za katere velja precej strožja regulativa zdravstvene primernosti. Kljub velikemu interesu po iskanju novih virov antioksidantov iz naravnih virov je potrebno kritično pristopiti k vrednotenju njihove učinkovitosti, saj se je že na primeru ključnih aditivov, kot so npr. askorbinska kislina, tokoferoli in karotenoidi, izkazalo, da pri določeni sestavi živila in povišani koncentraciji antioksidanta sicer učinkoviti antioksidanti učinkujejo kot prooksidanti (Rietjens in sod., 2002).

2.5 OJAČEVALCI AROME

Po Uredbi (ES) št. 1334/2008 so arome snovi, ki se uporabljajo za izboljšanje ali spreminjanje vonja in/ali okusa živil v korist potrošnika. Uporaba arom potrošnikov ne sme zavajati, zato bi bilo treba njihovo prisotnost v živilu vedno navesti z ustrezno označbo. Ista uredba opredeljuje tudi aromatične snovi (kemične snovi, ki vključujejo aromatične snovi, pridobljene s kemično sintezo ali izolacijo z uporabo kemičnih postopkov, in naravne aromatične snovi) in aromatične pripravke (arome, razen opredeljenih kemičnih snovi, ki se z ustreznimi fizikalnimi, encimskimi ali mikrobiološkimi postopki pridobivajo iz surovin rastlinskega, živalskega ali mikrobiološkega izvora bodisi v obliki neobdelanih surovin bodisi po predelavi za prehrano ljudi). V Uredbi Komisije (EU) 872/2012 (Priloga A) se nahaja Seznam Unije aromatičnih snovi. Vsebuje 1790 kemijskih spojin, seznam pa se ves čas dopolnjuje. Aromatične snovi so lahko naravne, naravnim enake ali umetne. Večina se jih lahko uporablja v skladu z dobro proizvodno prakso, le 11 je takih, kjer so predpisane mejne vrednosti.

V navedenem seznamu pa ne najdemo ojačevalcev arom, ki so opredeljeni v Uredbi (ES) št. 1333/2008 kot snovi, ki izboljšajo obstoječi okus in/ali vonj živila. Med aditivi jih najdemo pod oznakami E 600 - E 699. Na seznamu jih je trenutno 18 (preglednica 6, slika 9), vsi pa izvirajo iz aminokislin ali nukleotidov. Uporabljamo večinoma njihove natrijeve in kalcijeve soli. Vse te snovi okrepijo tako imenovani okus umami (okus po mesu), ki je posledica prisotnosti glutaminske kisline v mesu. Raziskave so pokazale, da se ta okus posreduje preko metabotropičnega glutamatnega receptorja (mGluR4). Vezava na receptor aktivira G-protein, kar naj bi povišalo koncentracijo znotrajceličnega kalcija. Okus je sicer najmanj raziskan izmed petih človeških čutov, saj okusa in arome ne zaznavamo samo z enim izmed njih. Pri tem sodeluje tako čutilo za okus v ustih kot čutilo za vonj v nosu .

Preglednica 6: Seznam dovoljenih ojačevalcev arome v EU (povzeto po Uredbi (ES) št. 1333/2008)

E620	Glutaminska kislina	E629	Kalcijev gvanilat
E621	Mononatrijev glutaminat (MSG)	E630	Inozinska kislina
E622	Monokalijev glutaminat	E631	Dinatrijev inozinat
E623	Kalcijev diglutaminat	E632	Dikalijev inozinat
E624	Monoamonijev glutaminat	E633	Kalcijev inozinat
E625	Magnezijev diglutaminat	E634	Kalcijevi 5'-ribonukleotidi
E626	Gvanilna kislina	E635	Dinatrijevi 5'-ribonukleotidi
E627	Dinatrijev gvanilat	E640	Glicin in njegove Na soli
E628	Dikalijev gvanilat	E650	Cinkov acetat

Glutaminska kislina (E 620) je ena izmed proteinogenih neesencialnih aminokislin. V telesu je zelo pomembna, saj ima ionska oblika glutaminske kisline vlogo nevrottransmitterja, ki je odgovoren za aktivacijo nevronov. Glutaminska kislina pa je v prehrani predvsem poznana zaradi tako imenovanega okusa umami. Prav zato je skupaj s svojimi natrijevimi (E 621), kalijevimi (E 622), kalcijevimi (E 623), amonijevimi (E 624) in magnezijevimi (E 625) solmi najpogosteje uporabljen ojačevalac arom.

Gvanilna kislina (E 626) je nukleotid ribonukleozid monofosfat, gradnik RNA. Pridobivajo jo z mikrobiološko fermentacijo. Ker je relativno draga spojina, jo ponavadi najdemo skupaj z glutaminati. Kot ojačevalce arome srečamo pogosto njene natrijeve (E

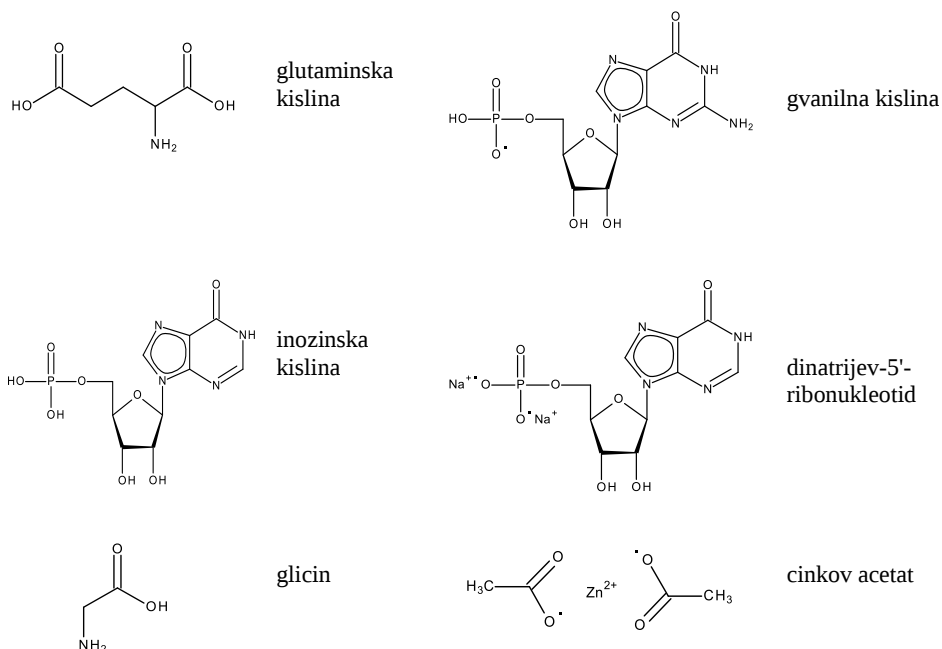
627), kalijeve (E 628) in kalcijeve (E 629) soli, predvsem v čipsu, slanih prigrizkih, konzervirani zelenjavi, prekajenem mesu in pakiranih juhah.

Inozinska kislina (E 630) spada med nukleozid monofosfate, oziroma med ribonukleotide in je prvi nukleotid, ki nastane med sintezo purina. Skupaj s svojimi natrijevimi (E 631), kalijevimi (E 632) in kalcijevimi (E 633) solmi se pogosto uporablja kot ojačevalec arome v juhah, omakah in začimbah.

Kalcijevi (E 634) in dinatrijevi (E 635) 5'-ribonukleotidi delujejo sinergistično z drugimi ojačevalci arom, zato jih pogosto v manjši količini dodajajo cenejšemu glutaminatu. Proizvajajo se s kemijsko sintezo med natrijevimi/kalcijevimi solmi gvanilne in inozinske kisline. Najpogostejše jih najdemo v slanih prigrizkih, omakah in hitri prehrani.

Glicin (E 640) je najpreprostejša neesencialna proteinogena aminokislina. V centralnem živčnem sistemu ima vlogo inhibitorke nevrotransmiterja. Kemijsko glicin pridobivajo z reakcijo med kloroocetno kislino in amonijakom. V živila ga lahko dodajamo po principu *quantum satis*, lahko se uporablja tudi kot nosilec. Največkrat ga najdemo v prehranskih dodatkih in proteinskih napitkih.

Cinkov acetat (E 650) se pogosto uporablja pri kemijski sintezi in kot prehranski dodatek. Nastane pri reakciji med ocetno kislino in cinkovim karbonatom.



Slika 9: Strukturne formule različnih ojačevalcev arom

2.6 EMULGATORJI, STABILIZATORJI IN ŽELIRNA SRDSTVA

Načrtovanje in proizvodnja emulzij ter ostalih disperznih sistemov sta dva izmed najzahtevnejših procesov v živilski industriji. V teh sistemih na videz nezdružljive snovi, kot so voda, proteini, ogljikovi hidrati, maščobe, in veliko število manjših molekul (vitamini, antioksidanti, kisline itd.), tvorijo kompleksen sistem, ki s časom ne razpade

na posamezne faze/komponente in ohranja teksturne lastnosti. Obstoj takšnih sistemov je mogoč zaradi emulgatorjev in stabilizatorjev, ki preprečujejo agregacijo (združevanje manjših delcev v večje – površina večjega delca je enaka vsoti površin sestavnih delcev) in koalescenco (zlivanje manjših delcev v večje – površina večjega delca je manjša od vsote površin sestavnih delcev). Uporaba emulgatorjev in stabilizatorjev v proizvodnji živil omogoča optimizacijo senzoričnih, teksturnih in strukturnih lastnosti, viskoznosti, trdote, roka uporabe, vsebnosti maščob, adsorpcije vode itd. Za razvoj izdelkov je potrebno razumeti in nadzorovati procese, ki imajo ključno vlogo pri nastanku in stabilizaciji emulzij in drugih disperznih sistemov v živilih.

Med emulgatorje in stabilizatorje uvrščamo tudi spojine, ki v Uredbi (ES) št. 1129/2011 niso navedene. Čeprav jih pogosto dodajamo živilom med proizvodnjo, jih formalno ne uvrščamo med aditive in jih zato poimenujemo z izrazom »dodatki«. Da bi v nadaljevanju besedila razlikovali med aditivi in dodatki, so aditivi še vedno označeni z E-številko medtem ko dodatki te oznake nimajo. Poleg razlikovanja med aditivi in dodatki, je potrebno postaviti tudi ločnico med emulgatorji in stabilizatorji. Čeprav se ta pojma pogosto zamenjujeta in obstajajo spojine, ki delujejo kot emulgatorji in kot stabilizatorji, sta Dickinson in Stainsby leta 1988 oblikovala definicijo, na podlagi katere lahko snovi razvrstimo v eno od omenjenih skupin aditivov. Z izrazom emulgatorji označimo spojine, ki so sposobne zaradi spremembe površinske napetosti vode na hidrofolbni meji pomagati pri nastanku in kratkotrajni stabilizaciji emulzije. Med najpomembnejše emulgatorje v živilski industriji uvrščamo lecitine (E 322) (zmes fosfolipidov in drugih podobnih snovi), derivate sorbitana (E 491–495), estre saharoze in maščobnih kislin (E 473–474), mono/digliceride maščobnih kislin (E 471) in semensko sluz gorčice. Pod oznako stabilizatorji se skrivajo spojine, ki ohranjajo strukturne in teksturne lastnosti sistema in s tem videz homogenosti, preprečujejo sedimentacijo ter ločitev maščobne od vodne faze (npr. nastanek smetane). Za razliko od emulgatorjev so sposobni dolgoročne stabilizacije emulzije, pogosto pa mehanizem njihovega delovanja vključuje proces adsorpcije. Med najpogostejše spojine, ki se v živilski industriji uporabljajo za stabilizacijo, uvrščamo različne gumije (arabikum (E414), ksantan (E 415), guar (E 412)), jajčni albumin, kazein, želatino, proteine sirotke, škrob in pektin (E 440). Najučinkovitejši emulgatorji so manjše molekule, ki imajo amfifilni značaj (polarna glava in nepolaren rep), medtem ko so stabilizatorji običajno molekule z veliko molekulsko maso – proteini ali polisaharidi (Dickinson, 2003, Degner in sod., 2014).

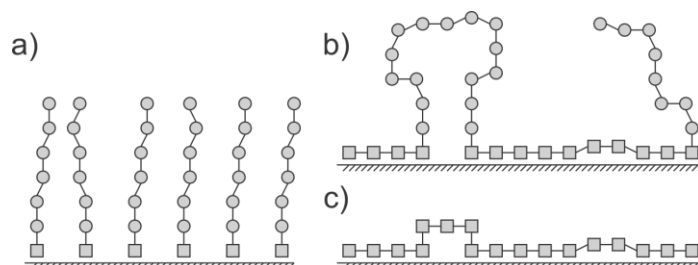
Mehanizmi delovanja emulgatorjev in stabilizatorjev

Molekule naštetih emulgatorjev in stabilizatorjev imajo eno skupno lastnost – v celoti ali pa vsaj pretežno (npr. nepolarni repi maščobnih kislin) so sestavljene iz večjega števila med seboj povezanih enakih ali različnih enot in jih zato pogosto obravnavamo s pomočjo zakonov, ki opisujejo obnašanje polimerov. Za tovrstno obravnavo je najprej potrebno emulgatorje oz. stabilizatorje razdeliti na dve skupini:

- spojine ki so sestavljene iz različnih osnovnih gradnikov (heteropolimeri), od katerih se nekatere vežejo na površino delcev, druge pa imajo večjo afiniteto do topila,
- spojine, ki so sestavljene iz enakih osnovnih gradnikov (homopolimeri), katere imajo afiniteto do topila ali pa do površine delcev.

Adsorpcija emulgatorjev/stabilizatorjev iz prve skupine na fazni meji omogoča nastanek dovolj velike sterične ovire, ki preprečuje približevanje in ponovno združevanje delcev. Nasprotno pa adsorpcija stabilizatorjev iz druge skupine povzroči nastanek tankega filma, ki ni sposoben preprečiti delcem, da bi se približali (Garti in Reichman, 1993).

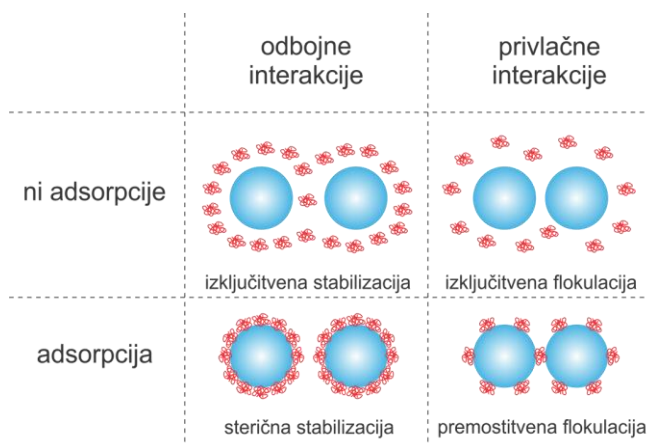
Obnašanje spojin z enakimi in različnimi osnovnimi gradniki na fazni meji prikazuje Slika 10.



Slika 10: Adsorpcija emulgatorjev/stabilizatorjev na fazni meji. (a) Adsorpcija manjših molekul, (b) adsorpcija heteropolimernih molekul in (c) adsorpcija homopolimernih molekul (prirejeno po Garti in Reichman, 1993).

Adsorpcija ima ključno vlogo pri razlagi delovanja emulgatorjev in stabilizatorjev. Kot je bilo že prej omenjeno, obstajajo poleg spojin, ki se v celoti oz. delno adsorbirajo na fazni meji tudi spojine, katere kažejo večjo afiniteto do topila in se torej na fazni meji ne adsorbirajo (Slika 11). Kljub nezmožnosti adsorpcije, pa so tudi tovrstne spojine pod določenimi pogoji sposobne stabilizirati disperzni sistem. Glede na koncentracijo, sposobnost adsorpcije spojine in vrsto topila lahko delovanje emulgatorjev in stabilizatorjev v emulzijah ter ostalih disperznih sistemih poenostavljeno opišemo s pomočjo petih mehanizmov (Pal, 1996):

- Premostitvena flokulacija – pojavi se pri nizkih koncentracijah polimerov, ko se le ti adsorbirajo na več kot en delec in delujejo kot most.
- Sterična stabilizacija – pojavi se pri višjih koncentracijah polimerov, ko se le ti na površini delcev tvorijo nov sloj in izničijo van der Waalsove privlačne sile med delci.
- Izključitvena flokulacija – pojavi se v območju od srednjih do visokih koncentracij polimerov, ki se ne adsorbirajo na površino delcev, ko se delci približajo drug drugemu, izrinejo polimere iz vmesnega prostora in flokulirajo (Feigin in Napper, 1980, van Oss in sod., 1990).
- Izključitvena stabilizacija – pojavi se pri zelo visokih koncentracijah polimerov, ki se ne adsorbirajo na površino delcev, ko se delci približajo drug drugemu, ustvarijo vmesna območja z manjšo koncentracijo polimera v primerjavi z okoliško raztopino, vendar zaradi visoke energijske ovire (v okoliški raztopini ni na voljo dovolj molekul topila, zato pride do »razmešanja« polimernih molekul in topila, kar ima za posledico zvišanje proste entalpije) delci ne uspejo izriniti vseh polimerov iz vmesnega prostora in delci ne bodo flokulirali (Feigin in Napper, 1980, van Oss in sod., 1990).
- Mehanska stabilizacija – o tovrstni stabilizaciji govorimo takrat, ko se trdni delci (npr. v vodi netopna mikrokristalinična celuloza) adsorbirajo na površino oljnih kapljic in s tem preprečijo koalescenca.



Slika 11: Prikaz interakcij med faznimi mejami. Makromolekule, ki se ne adsorbirajo na fazno mejo, lahko povzročijo odbojne ali privlačne interakcije. Enako velja tudi za makromolekule, ki se adsorbirajo na fazno mejo (prirejeno po Gong in sod., 2014).

Hidrokoloidi in želirna sredstva

Ko govorimo o emulgatorjih in stabilizatorjih, ne moremo mimo precej heterogene skupine polimerov z dolgimi verigami in s številnimi hidroksi (-OH) (polisaharidi) oz. drugimi polarnimi skupinami (proteini). Slednje jim dajejo hidrofilen značaj, vendar zaradi svoje velikosti pogosto z vodo ne tvorijo pravih raztopin, pač pa viskozne disperzije in/ali gele. Zaradi teh dveh lastnosti so ti polimeri tudi dobili svoje ime - hidrofilni koloidi oz. hidrokoloidi (Saha in Bhattacharya, 2010). Ker lahko s pomočjo hidrokoloidov vplivamo na viskoznost in teksturo in posledično tudi na senzorične lastnosti hrane, predstavljajo skupino pomembnih aditivov v živilski industriji. Juham, omakam, prelivom, sladoledu, marmeladam, sladicam, bombonom itd. dajejo zelene strukturne, teksturne in senzorične lastnosti. Čeprav se tradicionalno uporabljajo v procesih zgoščevanja (škrob, ksantan (E 415), različni gumiji (E 412, E 414, E 415 itd.) derivati celuloze (E 460 - 468) in želiranja (alginati (E 400 - 405), pektin (E 440), želatina, agar (E 406), karagenan (E 407), gelanski gumi (E 418)), imajo tudi znaten vpliv na medfazne interakcije in posledično na stabilnost disperznih sistemov. Večina hidrokoloidov stabilizira emulzije olj v vodi, nekaj pa jih ima tudi funkcijo emulgatorjev (npr. gumi arabikum (E 414), modificirani škrobi (E 1404–1452), modificirane celuloze (E 460–468), nekatere oblike pektina (E 440) in nekateri galaktomanani). Te spojine lahko delujejo kot emulgatorji zaradi (i) nepolarnega značaja skupin, ki so vezane na hidrofilno ogrodje polisaharida (modificirani škrobi/celuloze) ali zaradi (ii) prisotnosti proteinov, ki se kovalentno ali preko adsorpcije vežejo na polisaharid (nekateri gumiji, pektini itd.). Želatina, ki je edini protein med hidrokoloidi, ima nekaj lastnosti emulgatorja, toda primarno deluje kot stabilizator in želirno sredstvo (Dickinson, 2009).

Gele reološko opišemo kot visko-elastične sisteme, katerih elastični modul (G') je višji kot viskoznostni modul (G''). V živilsko predelovalni industriji se izraz gel navadno uporablja za označevanje živil z visoko vsebnostjo vode, ki bolj ali manj obdržijo svojo obliko, tudi ko jih odstranimo iz embalaže (de Vries, 2004). Takšna mehanska rigidnost gelov je posledica procesa želiranja, pri katerem se polimerne verige preko vodikovih vezi, hidrofobnih interakcij in interakcij s kationi povežejo v tridimenzionalno mrežo, v katero se ujamejo in imobilizirajo molekule vode. Med najpomembnejše polimere, ki imajo sposobnost želiranja, uvrščamo alginat (E 400–405), pektin (E 440), karagenan (E 407), želatino, proteine sirotke, protein zein, agar (E 406), modificiran škrob (E 1404–

1452), metil celulozo (E 461) in hidroksipropil metil celulozo (E 464) (de Vries, 2004). Našteta želirna sredstva so rastlinskega, živalskega, ali sintetičnega izvora, prav tako pa se razlikujejo tudi po strukturi monomernih enot, razvejanosti in velikosti. Zaradi različnih fizikalno-kemijskih lastnosti je poznavanje parametrov, znotraj katerih so posamezna želirna sredstva sposobna tvoriti gele, ključnega pomena pri postopku načrtovanja/nastanka prehranskega izdelka. V grobem lahko procese želiranja razdelimo med fizikalno vodene in kemijsko vodene (Banerjee in Bhattacharya, 2012). V prvo skupino, kjer je proces želiranja odvisen predvsem od temperature, spadajo agar (E 406), želatina, metil celuloza (E 461), škrob in proteini, v drugo skupino, kjer pa je proces želiranja odvisen predvsem od ionske moči in/ali pH-ja, pa uvrščamo alginat (E 400–405), karagenan (E 407) in pektin (E 440) (de Vries, 2004).

3 ZAKLJUČEK

Kljub vsestranski uporabnosti aditivov je njihova uporaba v živilski industriji pogostokrat nezaželena s strani potrošnikov. Naloga živilske industrije je, da prisluhne željam potrošnikov in poskuša ustvariti čim bolj kakovosten in hkrati tudi všečen izdelek. To je zelo težka, včasih nemogoča naloga, saj pričakovanja včasih niso v skladu z osnovnimi kemijskimi in fizikalnimi zakoni, ki pogostokrat ne dovolijo, da bi bil izdelek varen, stabilen, vizualno privlačen, imel dober okus in primerno teksturo, obenem pa brez aditivov. Živilska industrija se bo še naprej poskušala prilagoditi željam potrošnikov, ti pa se bodo morali zavedati omenjenih omejitev.

4 VIRI

- Banerjee S., Bhattacharya S. 2012. Food Gels: Gelling Process and New Applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52: 334–346
- Brul S., Coote P. 1999. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50: 1-17
- Carocho M., Morales P., Ferreira I.C.F.R. 2015. Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology* 45, 284-295
- Chemical Book: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1748891.htm (junij, 2017)
- Choe E., Min D.B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. 2009. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8: 345-358.
- Damodaran S., Parkin K.L., Fennema O.R. (eds.) 2007. *Fennema's Food Chemistry*, 4th ed., CRC Press, 194-198
- Degner B. M., Chung C., Schlegel, V., Hutkins R., McClements D. J. 2014. Factors Influencing the Freeze-Thaw Stability of Emulsion-Based Foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13: 98-113.
- de Vries J. 2004. Hydrocolloid gelling agents and their applications. In: Philips GO, Williams PA (eds) *Gums and stabilizers for the food industry*, vol 12, RSC Publ, Oxford, pp 22-30
- Dickinson E., Stainsby G. 1988. Emulsion stability. In: Dickinson E, Stainsby G (eds.) *Advances in Food Emulsions and Foams*, Elsevier, 1-44
- Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39
- Dickinson E. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers, *Food Hydrocolloids*, 23: 1473-1482.
- Dinga C.K., Chachin K., Ueda Y., Wang C.Y. 2002. Inhibition of loquat enzymatic browning by sulfhydryl compounds. *Food Chemistry*, 76: 213-218
- Feigin R.I., Napper D.H. 1980. Depletion Stabilization and Depletion Flocculation, *Journal of Colloid and Interface Science*, 75, 525-541
- Flasinski M., Gawrys M., Broniatowski M., Wydro P. 2016. Studies on the interactions between parabens and lipid membrane components in monolayers at the air/aqueous solution interface. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1858: 836-844
- Garti N., Reichman D. 1993. Hydrocolloids as Food Emulsifiers and Stabilizers, *Food Structure*, 12: 411-426.
- Gharsallaoui A., Oulahal N., Joly C., Degraeve P. 2016. Nisin as a food preservative: Part 1: Physicochemical properties, antimicrobial activity, and main uses. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56: 1262-1274
- Gong, X., Wang, Z., Ngai, T. 2014. Direct measurements of particle–surface interactions in aqueous solutions with total internal reflection microscopy, *Chem. Commun.*, 50, 6556-6570

- Gould G.W., Russell N.J. 2003. Sulfite. V: Food preservatives. Russell N. J. et al. (eds.). Kluwer Academic/Plenum Publishers: 85-101.
- Kanner J., Harel S., Shagalovich J., Berman S. 1984. Antioxidative effect of nitrite in cured meat products: nitric oxide-iron complexes of low molecular weight. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32; 512-515
- Lambert R.J., Stratford M. 1999. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology*, 86:157-164
- Newsome A.G., Culver, C.A., van Breemen R.B. 2014. Nature's Palette: The Search for Natural Blue Colorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62:, 6498-6511.
- O'Neil M.J. (2013). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Cambridge, UK, Royal Society of Chemistry: 1614-1614
- Opatowska-Stachowiak M., Elliott C.T. 2017. Food colors: Existing and emerging food safety concerns, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 524-548
- Pal, R. 1996. Rheology of Emulsions Containing Polymeric Liquids. V: Becher, P (ed) *Encyclopedia of Emulsion Technology*, vol 4, Marcel Dekker, Inc., New York, pp 94-255
- Pravilnik o živilih za posebne prehranske namene, Uradni List RS, št 46/200 z dne 27.5. 2002, stran 4665.
- Punyauppa-path S., Phumkhachorn P., Rattanachaikunsopon P. 2015. Nisin: Production and mechanism of antimicrobial action. *International Journal of Current Research*, 7(2): 47-53
- Rietjens I.M., Boersma M.G., Haan L., Spenkelink B., Awad H.M., Cnubben N.H., van Zanden J.J., Woude H., Alink G.M., Koeman J.H. 2002. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11: 321-333.
- Saha, D., Bhattacharya, S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review, *Journal of Food Science and Technology*, 47: 587-597
- Saltmarsh M. 2013. *Essential Guide to Food Additives*. 4th ed. Cambridge, RSC Press: 294 str.
- Scotter M.J. 2011. Emerging and persistent issues with artificial food colours: Natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3:28-39
- Sengar G., Kumar S. H 2014. Food caramels: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51: 1686-1696
- Skibsted L.H. 2011. Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. *Nitr. Ox.*, 24, 176-183.
- Skrzypczak-Jankun E., McCabe N.P., Selman S.H., Jankun J. 2000. Curcumin inhibits lipoxygenase by binding to its central cavity: theoretical and X-ray evidence. *International Journal of Molecular Medicine*, 6: 521-526
- Stratford M., Nebe-von-Caron G., Steel H., Novoforska M., Ueckert J., Archer D.B. 2013. Weak-acid preservatives: pH and proton movements in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology*, 161:164-171
- Thomas L.V., Delves-Broughton J. 2014. Permitted Preservatives – Sorbic Acid. V: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Batt C.A. and Tortorello (eds.). Elsevier: 102-107
- Uredba (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. 2008. Uradni list Evropske unije, 51, L 354: 16-33
- Uredba Komisije (ES) št.1334/2008 z dne 16. decembra 2008 aromah in nekaterih sestavinah živil z aromatičnimi lastnostmi za uporabo v in na živilih ter spremembi Uredbe Sveta (EGS) št. 1601/91, uredb (ES) št. 2232/96 in (ES) št. 110/2008 ter Direktive 2000/13/ES, L353: 34-50
- Uredba Komisije (EU) št. 1129/2011 z dne 11. novembra 2011 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z vzpostavitvijo seznama Unije aditivov za živila, L295: 1-177
- Uredba Komisije (EU) št. 872/2012 z dne 1. oktobra 2012 o sprejetju seznama aromatičnih snovi iz Uredbe (ES) št. 2232/96 Evropskega parlamenta in Sveta, njegovi uveljavitvi v Prilogi I k Uredbi (ES) št. 1334/2008 Evropskega parlamenta in Sveta ter razveljavitvi Uredbe Komisije (ES) št. 1565/2000 in Odločbe Komisije 1999/217/ES, L267: 1-161
- Uredba Komisije (EU) št.1050/2012 z dne 8. novembra 2012 o spremembi Uredbe (EU) št. 231/2012 o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v prilogah II in III k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta, glede sirupa poliglicitola L310: 45-46
- Uredba Komisije (EU) št. 497/2014 z dne 14. maja 2014 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta ter Priloge k Uredbi Komisije (EU) št. 231/2012 glede uporabe advantama kot sladila, L78: 6-13
- Uredba Komisije (EU) št. 2016/441 z dne 23. marca 2016 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta glede uporabe steviol glikozidov (E 960) kot sladila v gorčici, L295: 47-48
- Van Oss, C.J., Arnold, K., Coakley, W.T. 1990. Depletion Flocculation and Depletion Stabilization of Erythrocytes, *Cell Biophysics*, 17: 1-10

BIOTEHNOLOŠKO PRIDOBIVANJE ADITIVOV

Polona JAMNIK¹, Hrvoje PETKOVIĆ², Neža ČADEŽ³, Martina AVBELJ⁴,
Lucija SLEMC⁵, Luka KRANJC⁶, Maja PAŠ⁷

Povzetek: Mikroorganizmi so izjemno bogat vir naravnih metabolitov, ki imajo pomemben vpliv na delovanje in kakovost življenja moderne civilizacije. Po nekaterih ocenah je globalni trg mikrobnih proizvodov v letu 2014 znašal okoli 143,5 milijard USD in bo do leta 2020 presegel 300 milijard USD letno. Velik delež mikrobnih proizvodov se nanaša tudi na proizvodnjo aditivov v živilstvu. Biotehnoško pridobivanje aditivov s pomočjo mikroorganizmov zelo pogosto nadomešča kemijsko sintezo in izolacijo iz rastlinskih in drugih naravnih virov predvsem zaradi enostavnega gojenja in hitre rasti mikroorganizmov, njihove zmožnosti izkoriščanja sekundarnih surovin, manjše porabe energije, višjih donosov in uporabe okolju prijaznih tehnologij. V obsegu te publikacije smo lahko omenili le nekatere večje skupine aditivov, ki jih proizvajamo s pomočjo biotehnoških postopkov. Ti se nanašajo na različne primarne metabolite, kot so organske kisline, aminokisline, vitamini, maščobne kisline, encimi, arome, sladila in številni drugi aditivi, ki jih danes proizvajamo s pomočjo biotehnoških postopkov v ogromnih količinah. V luči novjših pristopov trajnostne proizvodnje hrane, novjših pristopov krožnega gospodarstva in bio-gospodarstva nasploh, bodo imeli biotehnoški pristopi v proizvodnji aditivov v prihodnosti prav gotovo še večji pomen.

Glavne besede: aditivi, biosinteza, aminokisline, organske kisline, maščobne kisline, arome, vitamini, nutracevtiki, encimi, barvila, protimikrobne snovi

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ADDITIVES

Abstract: Microorganisms are extremely rich source of natural metabolites with enormous importance for modern civilisation. According to some estimates, global market of microbial bioproducts has reached around 140 billion USD in the year 2014, with expectation, that this market may reach annual turnover of over 300 billion USD by the year 2020. Significant proportion of the world market of microbial bioproducts relates to food additives. Nowadays, biotechnological production of food additives is often replacing chemical synthesis approaches and extraction from natural sources, considering microorganisms can be relatively easily cultivated and manipulated and secondary raw materials can often be used for cultivation. These processes allow lower consumption of energy, while rapidly increasing yields of target products can be achieved in short time, which in turn results in excellent economic achievements. Importantly, biotechnological approaches are often also environmentally friendly. In the scope of this short publication, only the largest groups of food additives, produced by biotechnological approaches were described. These include diverse primary metabolites such as organic acids, amino acids, vitamins, fatty acids, diverse aromas and sweeteners and other additives, which are produced by biotechnological processes at large scale. It is reasonable to expect in the light of modern approaches of bio-economy, that biotechnological production of food additives will continue expanding rapidly.

Key words: additives, biosynthesis, amino acids, organic acids, fatty acids, aromas, vitamins, nutraceuticals, enzymes, antimicrobials, colouring agents

¹ izr. prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: polona.jamnik@bf.uni-lj.si

² prof. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: hrvoje.petkovic@bf.uni-lj.si

³ doc. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: neza.cadez@bf.uni-lj.si

⁴ asist. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: martina.avbelj@bf.uni-lj.si

⁵ UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lucija.slemc@bf.uni-lj.si

⁶ asist. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: luka.kranjc@bf.uni-lj.si

⁷ asist. dr., UL, BF, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: maja.pas@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Mikroorganizmi so izjemno bogat vir naravnih metabolitov, ki imajo pomemben vpliv na kakovost življenja moderne civilizacije. Glede na podatke, ki jih je objavil Business Communication Company (Singh in sod., 2017), je globalni trg mikrobnih proizvodov v letu 2014 znašal okoli 143,5 milijard USD. Pričakuje se, da bo globalni trg teh bioproizvodov hitro naraščal in presegel letno vrednost 300 milijard USD (Singh in sod., 2017). Tako imajo danes izjemen ekonomski pomen tudi biotehnološki pristopi za proizvodnjo aditivov v živilstvu. V obsegu tega prispevka je opisana proizvodnja in uporaba le nekaterih največjih skupin aditivov, ki jih danes intenzivno uporabljamo v živilski industriji.

2 PRIMERI BIOTEHNOLOŠKE PROIZVODNJE ADITIVOV

2.1 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA ORGANSKIH KISLIN

Od organskih kislin, ki se uporabljajo kot živilski aditivi in se proizvajajo biotehnološko, prednjačita po proizvodnji citronska in mlečna kislina, zato bosta tudi podrobneje predstavljeni v nadaljevanju. Letna produkcija citronske kisline znaša cca. 2 milijona ton (l. 2012), največja produkcija poteka na Kitajskem, medtem ko letna produkcija mlečne kisline znaša 300 000 ton (l. 2013). Producerska mlečne kisline poteka tako s kemijsko sintezo kot z mikrobo fermentacijo, vendar fermentacija predstavlja večji del. S fermentacijo se producira tudi čista mlečna kislina, kemijska sinteza pa vodi do nastanka racemata (Randhawa in sod., 2012; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016). Ostale organske kisline, ki se proizvajajo biotehnološko in se uporabljajo kot živilski aditivi, so še: očetna, glukonska, jabolčna in askorbinska kislina (Kubicek in Karaffa, 2006; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Mlečna kislina je bila prva organska kislina, ki se je na industrijski ravni producirala z mikrobnim procesom, in sicer leta 1881 v ZDA. Od takrat naprej ima široko uporabo v različnih industrijskih panogah (Narayanan in sod., 2004). Prva komercialna produkcija citronske kisline je potekala leta 1826, in sicer iz soka limon, ki je ostal komercialni vir do leta 1922, ko je v Belgiji stekel prvi industrijski bioproces produkcije citronske kisline s plesnijo *Aspergillus niger* (Max in sod., 2010).

Citronska kislina se na industrijski ravni proizvaja s plesnijo *Aspergillus niger*. Manjši del proizvodnje še vedno poteka s tradicionalno emerzno kultivacijo, kjer se v pladnje dodajo gojišče in spore plesni *A. niger*. Po 8 dneh kultivacije pri določenih pogojih se micelij plesni odstrani, sledijo procesi izolacije, kot sta ekstrakcija z vročo vodo in precipitacija citronske kisline. Izkoristki se gibljejo okrog 50 g produkta na kg sladkorja. Večji del proizvodnje citronske kisline pa poteka s submerzno kultivacijo v bioreaktorjih volumna 100–500 m³. Kot vir ogljika se uporablja hidrolizat škroba ali saharoza. Po 48 h se oblikujejo dovolj veliki peleti plesni *A. niger* (premer < 0,5 mm), da lahko začnemo z dohranjevanjem kulture z virom ogljika in povečamo prezračevanje, kar vodi v začetek produkcije citronske kisline, ki se izloča v brozgo. Koncentracija citronske kisline ob koncu bioprocasa znaša 150 g/L, izkoristki pa so večji kot 80 %. Tradicionalno se je po koncu bioprocasa micelij s filtracijo odstranil iz brozge, citronska kislina v filtratu se je precipitirala z dodatkom kalcijevega hidroksida in nato pridobila iz nastalega kalcijevega citrata v reakciji z žveplovno kislino. Dodatek aktivnega oglja ali ionskih izmenjevalcev je omogočil visoko čistost po kristalizaciji nastale citronske kisline. Pri opisanem procesu izolacije nastane veliko odpadkov in odpadne vode, kar povzroči stroške pri tretiranju le-teh. Zato se izolacija citronske kisline, ki se nahaja v bioproceni brozgi, večinoma

izvaja z dodatkom triravril amina, ki tvori s citronsko kislino kompleks, temu pa sledi ekstrakcija kompleksa z mešanico alkanov in 1-oktanola. Topila in reagenti se nato v procesu izolacije ponovno uporabijo (Kubicek in Karaffa, 2006; Max in sod., 2010; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Mlečna kislina se biotehnoško proizvaja z mlečnokislinskimi bakterijami rodu *Lactobacillus* (*L. delbrueckii*, *L. leichmannii*). Izbira vrste je odvisna od uporabljenega vira ogljika v gojišču. Poleg vira ogljika, dušika in fosforja laktobacili za svoje delovanje potrebujejo še vitamine iz skupine B. Bioprocen poteka anaerobno v 100-m³ bioreaktorjih, pri temperaturi 45–50 °C in vrednosti pH 5,5–6. Slednje dosežemo z dodatkom kalcijevega karbonata v gojišče. Pri vrednostih pH pod 4,5 se namreč aktivnost laktobacilov inhibira. Bioprocen je pri navedenih pogojih ponavadi končan po 2–6 dneh, odvisno od koncentracije uporabljenega substrata. Sledijo procesi izolacije, kjer se odstrani bakterijska biomasa, kalcijev laktat pa se pretvori v prosto kislino z dodatkom žveplove kisline, sledi nadaljnje čiščenje z ionsko izmenjevalno kromatografijo. Možna je tudi esterifikacija z metanolom, kjer pridobimo metilni ester mlečne kisline, ki se potem nadaljnje očisti z destilacijo. V razvoju je uporaba ionskih izmenjevalcev neposredno v bioproceni brozgi, kjer predhodno obarjanje kalcijevega laktata ni več potrebno (Kubicek in Karaffa, 2006; Ghaffar in sod., 2014; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Citronska in mlečna kislina imata široko uporabnost na različnih področjih. Na področju živilstva se citronska kislina dodaja v hrano in pijače kot sredstvo za zakisanje, konzervans ali kot antioksidant za ohranjanje ali ojačanje barve in arome izdelkov (npr. sadnih sokov, sladoleda in marmelad). Dodatek mlečne kisline v živila pa ima vlogo konzervansa in sredstva za zakisanje (Kubicek in Karaffa, 2006; Max in sod., 2010).

2.2 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA AMINOKISLIN

Med aminokislinami kot aditiv za uporabo v živilih izstopa L-glutaminska kislina oz. njena sol (natrijev glutamat). Ostale aminokisline, ki se še uporabljajo kot aditivi v hrani ali krmi, so: L-lizin, D,L-metionin, L-treonin in L-triptofan (Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Večina aminokislin se danes proizvaja biotehnoško, izjema med naštetimi je D,L-metionin, ki se pridobiva s kemijsko sintezo. Glavna mikrobná producenta aminokislin sta bakteriji *Escherchia coli* in *Corynebacterium glutamicum* (Eggeling in sod., 2006; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016). V nadaljevanju je opisana produkcija dveh aminokislin (L-glutamat in L-lizin), katerih letna produkcija je med aminokislinami, ki se producirajo biotehnoško in uporabljajo kot aditivi v hrani in krmi, največja in znaša cca. 2,5 milijonov ton za L-glutamat (l. 2012), in približno 1,3 milijone ton za lizin (l. 2012) (Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Produkcija glutaminske kisline se je začela leta 1909 s kislo hidolizo pšeničnih ali sojinih proteinov. Leta 1957 so raziskovalci odkrili bakterijo *Corynebacterium glutamicum*, ki je izločala glutaminsko kislino v gojišče. Sevi bakterije so bili nato izboljšani z mutagenezo, prav tako so optimizirali bioprocen produkcije glutaminske kisline. Kasneje je bilo ugotovljeno, da lahko bakterijo *C. glutamicum* uporabimo tudi za proizvodnjo lizina (Eggeling in sod., 2006).

L-glutaminska kislina (L-glutamat) se proizvaja z bakterijo *Corynebacterium glutamicum*. Kot vir ogljika se uporablja melasa ali hidrolizat škroba, amonijevi ioni pa

predstavljajo vir dušika. pH bioprocesa se vzdržuje pri 7,8, pomembna je skrbna kontrola prezračevanja, ki predstavlja kritični parameter. Z namenom večjega izločanja glutamata v brozgo je v gojišču optimizirana vsebnost biotina. Da bi preprečili katabolno represijo z glukozo, se po cca. 14 h kulture, ko je dosežena zadostna količina celične biomase, začne dohranjevanje z glukozo. Proizvedena glutaminska kislina se v bioproceni brozgi nahaja kot amonijev glutamat. Pod optimalnimi pogoji bioprocesa se donosi gibljejo okrog 150 g/L, izkoristek pretvorbe sladkorjev v glutamat znaša 60–70 %. Produkcija poteka v do 500-m³ velikih bioreaktorjih. V postopkih izolacije se s filtracijo odstrani celična biomasa, sledi anionsko izmenjevalna kromatografija filtrata, kjer se nahaja raztopljeni amonijev glutamat. Spiranje kolone z natrijevim hidroksidom omogoči, da se glutamat odstrani s kolone in nastane natrijev glutamat, ki se nato za končno uporabo še kristalizira (Eggeling in sod., 2006; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

L-lizin proizvaja bakterija *C. glutamicum*. Donosi se gibljejo več kot 100 g/L v 60 h in enako kot pri glutamatu se tudi tukaj zaradi katabolne represije z glukozo daje bioproceni dohranjevanjem, ki poteka v bioreaktorjih volumna 750 m³. Kot vir ogljika se uporablja trsna melasa. Izkoristek dosega 75 g L-lizina na 100 g glukoze. Po koncu bioprocesa gre celotna bioprocena brozga na sušenje z razprševanjem in granulacijo ali pa se celice odstranijo s filtracijo, izvede se ionsko izmenjevalna kromatografija filtrata in nato kristalizacija za oblikovanje produkta (Eggeling in sod., 2006; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

Glutamat se dodaja v živila (mesne omake, instant juhe in druge jedi), da se doseže t.i. umami okus (okus po mesu, po slastnem) (Jinap in Hajeb, 2010). Ostale aminokisline, ki se še uporabljajo kot aditivi, so L-lizin, D,L-metionin, L-treonin in L-triptofan. Njihova vsebnost je v rastlinah (soja, koruza, ječmen, oves, pšenica in riž), ki se uporabljajo za krmo živali ali za hrano ljudi, pri slednjih predvsem v primeru vegetarijanske prehrane, zelo nizka, zato je za doseg zdrave in uravnotežene prehrane potrebno njihovo dodajanje v obrok (Eggeling in sod., 2006; Schmid in Schmidt-Dannert, 2016).

2.3 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA MAŠČOBNIH KISLIN

Raziskave, ki so bile opravljene v zadnjih 20 letih, so pomembno vplivale na naše razumevanje vloge maščobnih kislin v naši prehrani. Izkazalo se je, da imajo predvsem večkrat nenasičene maščobne kisline še posebej pomembno vlogo pri našem razvoju, saj so pomemben sestavni del vseh celičnih membran, hkrati pa so pomembni prekursorji za sintezo različnih signalnih in bioaktivnih molekul, ki imajo protivnetne in protistrjevalne učinke. Tako je nujna njihova prisotnost pri vzdrževanju in izboljšanju kardiovaskularnega zdravja. Študije so pokazale, da ima zadostna prehranjenost novorojenčka z večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami (predvsem z arahidonsko in dokozaheksaenojsko kislino) pozitivno vlogo pri razvoju vida in spomina, zato so postale standarden sestavni del formul za dojenčke. Poleg tega so rezultati kliničnih študij pokazali, da povečan vnos omenjenih maščobnih kislin lajša simptome Alzheimerjeve bolezni in nekaterih vrst raka (Abedi in Sahari, 2014).

Tradicionalno so se večkrat nenasičene maščobne kisline pridobivale iz rib, kot so losos, skuša, in sardele, ki so bogat vir dokozaheksaenojske in eikozapentaenojske kisline. Problem uporabe rib za te namene je nihanje v maščobno kislinski sestavi ribjih olj glede na letni čas in geografsko lego, omejene možnosti lova ter dragi separacijski postopki, v kolikor želimo priti do čistih posameznih maščobnih kislin. Uporaba različnih

mikroorganizmov, kot so kvasovke, nitaste glive in alge, predstavlja komercialno zanimivo in predvsem bolj trajnostno rešitev za pridobivanje večkrat nenasičenih maščobnih kislin (Ratledge, 2013; Abedi in Sahari, 2014).

Gamma-linolenska kislina (GLK) je večkrat nenasičena maščobna kislina, ki se nahaja v večjih količinah v semenih jegliča in črnega ribeza, uporablja pa se za lajšanje menstrualnih bolečin (Abedi in Sahari, 2014). Je prva večkrat nenasičena maščobna kislina, ki se je začela komercialno proizvajati z mikroorganizmi – v primeru GLK z nitasto glivo *Mucor circinelloides*. Proizvodnja GLK z *M. circinelloides* je potekala v osemdesetih letih prejšnjega stoletja v mešalnih bioreaktorjih, ki so se sicer uporabljali za proizvodnjo citronske kisline (Ratledge, 2013).

Dokozaheksaenojska kislina (DHK) je večkrat nenasičena maščobna kislina, ki se nahaja v celičnih membranah možganskega in živčnega tkiva. Je ena izmed pomembnih sestavin formul za dojenčke, saj ima pomembno vlogo pri njihovem razvoju (Abedi in Sahari, 2014). Prvi mikroorganizem, s katerim je bila DHK proizvedena v komercialne namene, je bil dinoflagelat *Cryptochodinium cohnii*, prvi komercialni pripravek pa je pridobil status GRAS (ang. »Generally Recognised As Safe«) status leta 2002 v ZDA in kmalu za tem tudi v drugih državah sveta. Poleg *C. cohnii*, se DHK proizvaja tudi s heterokontnimi algami rodov *Schizochytrium*, *Ulkenia* in *Traustochytrium*, ki so postale zanimive zaradi sposobnosti hitre rasti v industrijskih fermentorjih. Poleg formul za dojenčke, se DHK vključuje tudi v različne živilske izdelke, kot so majoneze in namazi na trgu pa obstaja tudi kot prehranski dodatek v obliki kapsul (Ratledge, 2013).

Arahidonska kislina (ARK) je večkrat nenasičena maščobna kislina, ki se nahaja v celičnih membranah možganov, jeter in mišic, sodeluje pa tudi pri celični signalizaciji (Abedi in Sahari, 2014). Je tudi sestavni del formul za dojenčke, saj njena prisotnost prepreči retro-konverzijo eikozapentaenojske kisline (prav tako prisotne v formulah za dojenčke), katere produkti negativno vplivajo na razvoj vida. V industrijskem merilu se pridobiva z nitasto glivo *Mortierella alpina*, vendar je zaradi počasne rasti in akumulacije lipidov, postopek pridobivanja z omenjeno glivo še vedno dolgotrajen (Ratledge, 2013).

Eikozapentaenojska kislina (EPK) je večkrat nenasičena maščobna kislina in je pomemben prekurzor za sintezo eikozanoidov, ki imajo vlogo pri regulaciji vnetnih in strjevalnih procesov ter uravnavanju krvnega tlaka. Uživanje EPK in njenih etilnih estrov, samih ali v kombinaciji z drugimi večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami, ima preventivno vlogo pri nastanku kardiovaskularnih bolezni, hkrati pa terapevtsko vlogo pri lajšanju simptomov diabetesa tipa II, nevropsihiatričnih motenj in uravnavanju maščob v krvi (Abedi in Sahari, 2014). Zaradi omenjenih lastnosti je vključena v nekatere farmacevtske produkte. V naravi se v visokih koncentracijah nahaja v ribah, vendar so postopki izolacije zahtevni in dragi. Alternativa za pridobivanje EPK predstavljajo nekatere mikroalge iz rodu *Nannochloropsis* spp. ter vrst *Cylindrotheca fusiformis*, *Navicula pelliculosa* in *Nitzschia laevis*. Vseeno pa uporaba omenjenih vrst ne predstavlja optimalne rešitve za pridobivanje EPK, saj so donosi nizki, hkrati pa gre za kompleksne mešanice lipidov, ki zahtevajo dodatne postopke čiščenja, kar se odraža v visoki ceni produkta (Ratledge, 2013).

Kultivacija mikroalg predstavlja eno izmed rešitev za pridobivanje lipidov in maščobnih kislin. Fotosintetske alge se lahko gojijo v zaprtih sistemih – fotobioreaktorjih in odprtih sistemih, kot so na primer različne stoječe vode. Vsak izmed omenjenih sistemov ima svoje prednosti in slabosti. Donosi v fotobioreaktorjih so visoki, vendar so povezani z visokim začetnim vložkom in visoko ceno obratovanja, medtem ko je kultivacija alg v

odprtih sistemih cenejša, vendar so donosi nižji, hkrati pa se ne da izogniti prisotnosti drugih organizmov tekom procesa kultivacije (Ratledge, 2013).

Vedno bolj ekonomsko zanimivo predstavlja produkcija maščobnih kislin s kvasovkami, pri katerih lahko donos dvignemo ne samo z optimizacijo kultivacijskih metod, ampak tudi s tehnikami genskega inženiringa. Še posebej je zanimiva *Yarrowia lipolytica*, saj je že naravno sposobna akumulacije visoke koncentracije lipidov, ima znano sekvenco genoma ter tehnike genske manipulacije, hkrati pa je sposobna hitre rasti in akumulacije lipidov na ekonomsko ugodnih substratih. Primer uporabe gensko spremenjene kvasovke *Y. lipolytica* za proizvodnjo večkrat nenasičenih maščobnih kislin je ravno proizvodnja EPK kot sestavni del nutracevtikov, ki je dobila odobren GRAS status v Združenih državah Amerike s strani Ameriške administracije za hrano in zdravila (Gonçlaves in sod., 2014; Ratledge, 2013).

2.4 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA AROM

Aromatične snovi so izrazito bioaktivne molekule, ki izzovejo svoj značilen okus in vonj tudi, če so prisotne v zelo nizkih koncentracijah. Procesiranje hrane, prezgodnje obiranje in dolgotrajno skladiščenje, kot tudi fizikalno tretiranje živil povzročijo izgubo arom, kar zahteva njihovo kasnejše dodajanje (Krings in Berger, 1998).

Od razvoja fermentiranih živil, vina, piva, sira, sojine omake in sorodnih proizvodov, so imeli tradicionalni mikrobní procesi glavno vlogo pri razvoju kompleksnih mešanic arom. Prve korenine moderne biotehnologije arom segajo 150 let v preteklost, ko so identificirali benzaldehid (grenka aroma po mandljih), ter izolirali in sintetizirali vanilin. S tem se je začela sodobna industrija arom, ki je sprva obsegala predvsem presejanje mikroorganizmov in njihovih značilnih arom, medtem ko sodobne biotehnološke pristope, kamor sodi tudi genski inženiring, uporabljamo predvsem za izboljšanje učinkovitosti biokatalitične pretvorbe. Razvojni vidik pri biotehnološki produkciji arom je danes usmerjen na metabolni inženiring celičnih tovarn, v katere vstavljajo nove biosintetske poti za presnovo poceni substratov, kot so glukoza, glicerol ali lignoceluloza, in služijo kot prekursorji arom z dodano vrednostjo (Carroll in sod., 2016).

Zaradi naraščanja potreb po naravnih aromah in obenem zahtevnih ekstrahiranj iz njihovega naravnega vira se razvijajo novi pristopi njihove proizvodnje. Eden izmed pristopov je uporaba metabolnega inženiringa za proizvodnjo estrov, terpenoidov, aldehydov in metil ketonov (Preglednica 1).

Primer mikrobní proizvodnje arom sta produkcija **diacetila** in **acetoina**, ki dajeta živilom maslen okus. Obe molekuli sta intermediata, ki nastajata med bakterijsko fermentacijo, katere končni produkt je 2,3-butandiol. Producers acetoina v *Escherichia coli* (*E. coli*) iz glukoze poteka s pomočjo dveh encimov, katerih izvor sta *E. coli* in *Lactococcus lactis*. Poleg tega so z namenom povečanja dotoka substrata v metabolno pot, odstranili encime, ki pretvarjajo substrat v druge metabolne produkte. Z izbiro drugih gostiteljskih vrst, kot sta kvasovka *Candida glabrata* in bakterija *Bacillus subtilis*, so izboljšali produktivnost. Podoben pristop so izbrali za produkcijo diacetila v bakteriji *Enterobacter cloacae*.

Preglednica 1: Titer, produktivnost in izkoristek mikrobne proizvodnje različnih arom (prirejeno po Carroll in sod., 2016 in Schrader, 2007)

Kemijska spojina	Gostitelj	Titer	Produktivnost	Izkoristek
Acetoin	<i>Escherichia coli</i>	870 mg/L	7 mg/L/h	0,22 g/g _{glc}
	<i>Candida glabrata</i>	7,3 g/L	0,1 g/L/h	0,07 g/g _{glc}
	<i>Bacillus subtilis</i>	57 g/L	0,6 g/L/h	N.P.
Diacetil	<i>Enterobacter cloacae</i>	1,5 g/L	0,1 g/L/h	0,1 g/g _{glc}
Metil ketoni	<i>Penicillium roquefortii</i>	3,4 g/L	76 mg/L/h	40 % T.M.
Izobutiraldehid	<i>E. coli</i>	35 g/L	0,3 g/L/h	45 % T.M.
Vanilin	<i>Amycolatopsis</i> sp.	12 g/L	N.P.	N.P.
Benzaldehid	<i>E. coli</i>	350 mg/L	7 mg/L/h	66 % T.M.
	<i>Pichia pastoris</i>	5 g/L	97 mg/L/h	0,2 g/g _{ba}
Izobutil acetat	<i>E. coli</i>	36 g/L	0,5 g/L/h	42 % T.M.
	<i>E. coli</i>	17,5 g/L	0,24 g/L/h	80 % T.M.
	<i>E. coli</i>	19,7 g/L	0,16 g/L/h	79 % T.M.
Limonen	<i>E. coli</i>	435 mg/L	9 mg/L/h	44 mg/g _{glc}
	<i>E. coli</i>	2,7 g/L	60 mg/L/h	4 mg/g _{gli}
Geranijska kislina	<i>Pseudomonas putida</i>	193 mg/L	4 mg/L/h	42 mg/g _{gli}

T.M., teoretični maksimum; N.P. ni podatka; glc, glukoza; ba, benzil alkohol; gli, glicerol; arb, arabinosa

Metil ketoni se uporabljajo predvsem kot aditiv mlečnim izdelkom, ki jim dajejo značilno aromo po oreških. Metil ketoni različnih dolžin nastajajo med beta-oksidacijo maščobnih kislin. V enem izmed industrijskih procesov uporabljajo bioproces na trdnem nosilcu iz semen ajde (kultivacija »solid-state«) in kot producenta nitasto glivo *Penicillium roquefortii*.

Izobutiraldehid je razvejan aldehid, ki ima vonj po sladju in ga povezujemo s fermentacijo piva in vina. Z inženiringom metabolne poti za produkcijo izobutanola je mogoče preusmeriti metabolizem v produkcijo izobutiraldehida.

S stališča tržnega deleža, kot tudi njegove tržne vrednosti, je nedvomno najpomembnejša aromatska spojina **vanilin**. Današnji industrijski procesi so vezani na biokonverzijo ferulne kisline z različnimi vrstami bakterij. Le-te morajo biti izredno odporne na v večjih koncentracijah citotoksičen vanilin. Eden izmed patentov opisuje uporabo aktinomicete *Amycolatopsis* sp. HR 167, katere koncentracije produkta sežejo do 12 g/L kadar uporabljajo bioproces z dohranjevanjem.

Benzaldehid ima aromo grenkih mandljev in je glede na tržni delež druga najpomembnejša aromatska snov. Čeprav je večinoma pridobljen s kemijsko sintezo, tržni delež naravnega benzaldehida narašča. Ravno zaradi oznake »naravno« je zanimivo pridobivanje benzaldehida z bakterijo *E. coli* ali s kvasovko *Pichia pastoris*, ki imata iz genoma izbrisane gene za aldehidno reduktazo. Posledično je glavni produkt metabolizma benzaldehid in ne kot je naravno, benzil alkohol.

Estri so aromatske spojine, ki dajejo vonj po sadju in cvetlicah. Nastanejo s spojitvijo različnih alkoholov in kisline z vezanim koencimom A. Za mikrobno proizvodnjo se uporabljajo genetsko spremenjeni sevi *E. coli*, ki producirajo **izoamil acetat** iz intracelularnega acetil-CoA in izoamil alkohola, ki ga dodajajo v gojišče.

Terpeni so velika skupina naravnih proizvodov, ki jih večinoma pridobivamo iz rastlin. Vendar je njihova izolacija draga in zato z mikrobno produkcijo rešujejo vedno večje

potrebe po teh spojinah. Najpomembnejši izmed njih je limonen, ki daje vonj po citrusih. Ekspresija evkariontske mevalonatne izoprenoidne poti v bakteriji *E. coli* omogoča tvorbo limonena in njegovih derivatov bodisi na gojišču z glukozo bodisi z glicerolom kot virom ogljika. Alternativno je kot produkcijski organizem monoterpenov zanimiva vrsta *Pseudomonas putida*, ki ima visoko toleranco na toksične produkte. Slednji se uporablja za oksidacijo geraniola v geranijevo kislino, ki daje sladkast okus po lesu in limoni (Carroll in sod., 2016, Schrader, 2007).

Na področju produkcije naravnih arom je s poznavanjem in razvojem sintetičnih metabolnih poti v gostiteljskih organizmih narejen velik korak k mikrobnii produkciji arom. Kljub temu predstavlja zaenkrat velik izziv odpornost teh mikroorganizmov na visoke koncentracije ciljnih metabolitov.

2.5 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA SLADIL

Sladila so definirana kot katerekoli snovi, ki jih dodajamo živilom z namenom sladkanja. Kot dodatki živilom so poznana že tisočletja, predvsem v obliki medu in sadja. Leta 1879 so odkrili prvo brezkalorično sintetično sladilo saharin in s tem se je začela doba umetnih sladil. Čeprav se je sprva zdelo, da je saharin namenjen predvsem diabetikom, pa so se od samega začetka njegove komercialne uporabe okoli leta 1900 dalje začela porajati vprašanja o njegovih negativnih vplivih na zdravje. Podobno so bila izpostavljena vprašanja o varnosti tudi o ciklamatu, ki so ga kmalu po njegovi komercializaciji prepovedali. Tako je ostal saharin edino umetno sladilo do leta 1974, ko je FDA odobrila uporabo dipeptida aspartama, sestavljenega iz aspartata in fenilalanina (Inglet, 1976). Leta 2003 je EFSA (ang. »European Food Safety Authority«) potrdila njegovo varnost, ob pogoju, da ga zaužijemo v dnevno predpisani količini. Današnji svetovni trendi pa so usmerjeni k nizkokaloričnim sladilom naravnega, rastlinskega ali mikrobnega izvora, predvsem zaradi zavesti potrošnikov o zdravi prehrani.

Nadomestki sladil na osnovi sladkorjev sodijo v pet kemijskih skupin: terpenoidi (npr. steviozid), glikozilirani proteini (taumatini), flavonoidi, steroidni saponini in poliolii ali sladkorni alkoholi, kot so eritritol, maltitol, laktitol, manitol, sorbitol in ksilitol. Ta sladila, z izjemo ksilitola, niso tako sladka kot sladkor in zato se v večini uporabljajo v kombinaciji z umetnimi sladili (Philippe in sod., 2014). Večino teh sladil industrijsko sicer večinoma pridobivajo s kemijsko sintezo iz različnih sladkorjev, izjema je eritritol. Le-tega pridobivajo biotehnoško z ozmofilno, bazidiomicetno kvasovko rodu *Moniliella*, ki jo kultivirajo na hidroliziranem škrobu z bioprosesom z dohranjevanjem z glukozo. Po zaključenem bioprosesu celice kvasovke odstranijo iz brozge, ter s kristalizacijo pridobijo eritritol (de Cock, 2012). Zaradi trenda po sladilih naravnega izvora pričakujemo, da se bo v prihodnjih letih prenesla v industrijsko okolje tudi biotehnoška produkcija drugih sladil, ki je danes na nivoju laboratorijskih raziskav, kot je na primer ksilitol.

2.6 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA VITAMINOV

Vitamine uvrščamo med mikro-hranila, ki jih sesalske celice niso sposobne same sintetizirati, zato jih morajo sesalci praviloma pridobiti s prehrano. Poleg njihove *in vivo* prehranske in fiziološke vloge v metabolizmu celice, tako pri bakterijah, rastlinah in živalih, se danes vitamini vse več uporabljajo tudi kot aditiviti v prehrani človeka, medicini, kozmetiki, živilski industriji in kot aditivi, ki se dodajajo v krmo za živali. Vitamine navadno delimo v dve skupini: vodotopne vitamine, kot so npr. vitamin C, B2 in B12, in v vodi netopne vitamine, kot sta vitamin E (α -tokoferol) in vitamin K2. Vsi

omenjeni vitamini se lahko proizvajajo z biotehnološkimi postopki (Survase in sod., 2006), v praksi pa je njihova proizvodnja na industrijskem nivoju omejena na vitamine C (askorbinska kislina), B2 (riboflavin) ter vitamin B12 (cianokobalamin), proizvodnja katerih bo tudi bolj podrobno opisana v tem prispevku. Druge vitamine pa pridobivamo predvsem z izolacijo iz naravnih virov, s postopki kemijske sinteze ali kombiniranimi postopki kemijske sinteze in biotransformacij.

Vitamin B12 (cianokobalamin) je ena najbolj fascinantnih spojin, ki obstajajo v naravi. Glede na njegovo kompleksno strukturo je vitamin B12 praktično nemogoče industrijsko proizvajati s kemijsko sintezo, zato se že od 50-ih let prejšnjega stoletja proizvaja z biosinteznim postopkom. Prevladujeta predvsem dva biosintezna postopka; en sloni na proizvodnem organizmu *Propionibacterium* spp., aktinomiceti, ki jo navadno najdemo v prebavilih sesalcev in mlečnih proizvodih. Danes dosejajo donosi vitamina B12 z biosinteznim procesom *Propionibacterium* spp. že preko 150 mg/L (Fang in sod., 2017). Kasneje se je razvil nov aeroben bioproces proizvodnje vitamina B12 z industrijskim sevom *Pseudomonas denitrificans*. S procesom, ki sloni na tem organizmu, ciljni donosi ob koncu biosinteznega procesa presegajo 200 mg/L. Po zadnjih podatkih (Fang in sod., 2017) naj bi ocenjena letna proizvodnja vitamina B12 znašala okoli 35000 ton čistega vitamina. Podobno kot vitamin B2 se tudi vitamin B12 uporablja tako v živilstvu, kot dodatek krmilom za živali, kot tudi v medicini. Cena vitamina B12 je zaradi relativno nizkih donosov visoka. Še posebej jo dvigujejo stroški izolacije, saj industrijski sevi proizvajajo večje število različnih oblik vitamina B12 (npr. cianokobalamin, hidroksikobalamin in metilkobalamin) in tudi številne psevdovitamine B12, ki so vmesni ali stranski produkti v biosintezi vitamina B12, zato se za izolacijo uporabljajo dokaj dragi kromatografski pristopi (Fang in sod., 2017).

Riboflavin (vitamin B2) je vodotopen vitamin, ki se je v preteklosti proizvajal s kemijsko sintezo, v zadnjih desetletjih pa se proizvaja predvsem biotehnološko. Za industrijske bioprocese se uporabljata nitasta gliva *Ashbya gossypii* (Ledesma-Amaro in sod., 2015) in grampozitivna bakterija *Bacillus subtilis*. Biosintezni proces za produkcijo vitamina B2 z nitasto glivo *Ashbya gossypii* sloni na industrijskih sevih, ki so pridobljeni s postopki naključne mutageneze in selekcije, in danes presegajo donose 15 g/L. Kot kaže pa industrijska proizvodnja vitamina B2 danes sloni bolj na industrijskih sevih *B. subtilis*, ki dosejajo donose med 20 in 40 g/L v času bioprocasa, ki traja 60-80 ur (Survase in sod., 2006). Za potrebe teh bioprocsov se uporabljajo visoko-donosni sevi *B. subtilis*, ki so pridobljeni s postopki naključne mutagenize in intenzivnih genskih manipulacij z amplifikacijo t.i. *rib*-operona, ki kodira ključne encime za biosineto vitamin B2. Letna svetovna proizvodnja riboflavina po trenutnih ocenah presega 8000 ton (Ledesma-Amaro in sod., 2015). Vitamin B2 se uporablja tako v živilstvu in kot dodatek krmilom za živali, kot tudi v medicini.

Ocenjuje se, da letna proizvodnja **vitamina C** presega 110 000 ton letno (Starling, 2010). Vitamin C se uporablja v medicini, farmacevtski in živilski industriji. Poleg tega, da je askorbinska kislina pomemben aditiv, jo v velikih količinah uporabljamo tudi kot antioksidant. Prva industrijska proizvodnja vitamina C sega že v 30. leta prejšnjega stoletja, ko je podjetje Hoffmann-La Roche (Švica) patentiralo sintezni postopek, t.i. Reichsteinov proces. Večina vitamina C se danes še vedno proizvede s tem postopkom, čeprav se ena stopnja v pripravi vitamina izvde s pomočjo biotehnološkega postopka biotransformacije. Industrijska proizvodnja askorbinske kisline se začne z uporabo D-glukoze, ki se jo s kemijsko modifikacijo transformira v D-sorbitol. Nato se s pomočjo sevov *Gluconobacter* spp. D-sorbitol v postopku biotransformacije prevede v D-sorbozo, ki se nato v 4- stopenjskem sinteznem Reichsteinovem postopku preko 2-keto-L-

glukonske kisline transformira v askorbinsko kislino. V preteklih letih je bilo objavljenih veliko poskusov (Survase in sod., 2006), da se razvije biosintezni postopek za direktno biosintezo vitamina C. Takšni laboratorijski procesi so bili demonstrirani z rekombinantnimi kvasovkami *Saccharomyces cerevisiae* in *Zygosaccharomyces bailii*. Največ obeta biosintezni postopek z mikroalgama *Chlorella pyrenoidosa* in *Euglena gracilis* (Survase in sod., 2006).

Industrijska proizvodnja vitaminov se torej izvaja s pomočjo kemijske sinteze in izolacije iz naravnih virov. Kot opisano zgoraj, pa nekatere vitamine proizvajamo z biotehnoškimi procesi. Zaradi hitrega naraščanja porabe teh aditivov so pogosto naravni viri nezadostni, kemijska sinteza pa postaja predraga. Zato v zadnjih letih raziskovalne inštitucije veliko vlagajo v razvoj novih biosinteznih postopkov, ki bi zagotovili dovolj velike količine vitaminov ob ugodni ekonomiki in visokih okoljevarstvenih standardih.

2.7 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA KAROTENOV IN OSTALIH BARVIL

Barva je pomemben aspekt zaznave, čutenja in okušanja. Naravna barvila lahko razdelimo v večje skupine: tetrapiroli (klorofil), tetraterpenoidi ali karotenoidi (karoteni, ksantofili), flavonoidi, kvinoni in betalaini. Karotenoidi so najbolj razširjena skupina naravno prisotnih pigmentov in tvorijo različne odtenke rumene, oranžne in rdeče barve. Vir naravnih pigmentov so rudnine, živali, rastline in mikroorganizmi.

Zgodovina uporabe barv sega daleč v zgodovino in sicer v tisočletja pred našim štetjem, kjer so za barvanje tekstila uporabljali rastline in sadje. Prvi znani zapis o uporabi naravnih barvil v hrani izhaja iz Japonske, kjer so v 8. stoletju obarvali torte s sojo in fižolom. V vzhodni kulturi se že več kot dve stoletji s kultivacijo *Monascus purpureus* proizvaja rdeč kvasni riž, ki se uporablja kot rdeče-vijolično barvilo. Z razvojem civilizacije se je umetnost barvanja zelo razširila. Do sredine 19. stoletja so bila na voljo le barvila prisotna v naravi, a je z razvojem poceni sintetičnih barvil, ki so omogočila masovno produkcijo, prišlo do upada porabe naravnih barvil. V 1960-letih je prišlo do velikega gibanja proti uporabi sintetičnih barvil, zaradi karcinogenih vplivov prekursorjev za sintezo barvil in negativnega vpliva na okolje. Potrošniki so postali bolj ozaveščeni, kar je omogočilo razvoj in produkcijo pigmentov z mikroorganizmi. Leta 1954 je bil na trg lansiran prvi karotenoidni pigment proizveden z bakterijami rodu *Cryptococcus*. Devet let kasneje so začeli s produkcijo karotenoida s kultivacijo kvasovk *Rhodotortula* sp. Leta 1985 pa je bila vzpostavljen industrijski bioproces kultivacije *Dunaliella salina* za produkcijo β -karotena v velikem obsegu, ki še danes predstavlja enega od vodilnih bioprocsov v proizvodnji prej omenjenega karotenoida. (Venil in sod. 2013)

Nasprotovanje potrošnikov sintetičnim barvilom in hiter razvoj biotehnologije sta omogočila produkcijo barvil oziroma pigmentov z mikroorganizmi. Pigmenti proizvedeni z mikroorganizmi so okoljsko ugodnejša alternativa in imajo številne prednosti pred izolacijo barvil iz drugih virov. Izolacija barvil iz različnih rastlin ali živali ima številne negativne lastnosti: odvisnost od rasti in podnebnih razmer, variacije v proizvodnji, potreba po uporabi velikih površin in počasna rast oziroma prirast biomase. Na industrijskem nivoju poteka produkcija pigmentov (Preglednica 2) z različnimi mikroorganizmi: bakterijami, glivami, kvasovkami in algami. Poleg pigmentov, ki se proizvajajo na industrijskem nivoju, jih je veliko v fazi raziskovanja ali razvoja industrijskega bioprocesa; kot na primer proizvodnja cikloprodigiozina s *Pseudomonas denitrificans* ali zeaksantina s *Staphylococcus aureus*. Glavnino razvoja predstavlja

izbira ustreznega gostiteljskega sistema, optimizacija samega procesa in pa uporaba novih orodij sintezne biologije in metabolnega inženiringa, kar je specifično za določen produkt. Poleg mikroorganizmov pa predstavljajo rastlinske tkivne kulture robustne sisteme za produkcijo različnih pigmentov (Nigam in Luke, 2016).

Preglednica 2: Seznam nekaterih barvil komercialno pridobljenih z mikroorganizmi, ki se uporabljajo v živilski industriji (prirejeno po Nigam in Luke, 2016; Tuli in sod., 2015)

Kemijska uvrstitev	Pigment	Barva	Mikroorganizem/-i
Flavin	Riboflavin	Rumena	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Ashbya gossypii</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Clostridium acetobutylicum</i> , <i>Debaryomyces subglabrous</i>
Karotenoidi	β -karoten	Rumeno-oranžna	<i>Blakeslea trispora</i> , <i>Dunaliella salina</i> , <i>Dunaliella bardawil</i>
Karotenoidi	Likopen	Rumena, rdeča	<i>Blakeslea trispora</i>
Karotenoidi	Astaksantin	Rumena, rdeča	<i>Haematococcus pluvialis</i> , <i>Haematococcus lacustris</i> , <i>Xanthophylomyces dendrorhous</i>
Karotenoidi	Kantaksantin	Oranžna, rdeča	<i>Haematococcus lacustris</i> , <i>Bradyrhizobium</i> sp.

Biotehnoška proizvodnja različnih pigmentov poteka s kultivacijo bakterij, kvasovk, gliv in alg v submerznih bioreaktorjih, na trdnih substratih, v fotobioreaktorjih ali s kultivacijo v zunanjih bazenih. Poleg ustreznega tipa bioprocesa ima optimizacija celotnega postopka ključen pomen: od optimalnih pogojev (pH, temperatura, mešanje...), uporaba poceni virov ogljika in dušika (odpadni produkti različnih industrij) in učinkoviti zaključni postopki. Kot primer bo predstavljena proizvodnja β -karotena z nepatogeno glivo *Blakeslea trispora*. Omenjena gliva obstaja v (+) in (–) paritvenem tipu, kjer tip (+) sintetizira prekursorsko kislino, tip (–) pa velike količine β -karotena. Najprej poteka priprava inokuluma, ter inokulacija aerobnega submerznega bioreaktorja v ustreznem razmerju med (+) in (–) paritvenim tipom v gojišče z glukozo in koruzno omakalno vodico. Po zaključenem bioprocusu se iz biomase z etil acetatom izolira β -karoten, sledijo postopki čiščenja, koncentriranja in kristalizacije (Venil in sod. 2013; Tuli in sod., 2015;).

Pigmenti, proizvedeni z mikroorganizmi (Preglednica 2), se uporabljajo v živilski industriji kot naravna barvila v hrani in pijači ali kot dodatek k prehrani za živali (kozice, losos). Razlogi za uporabo barvil v živilski industriji so: (1) nadomestitev izgubljene barve med samim procesom, (2) ojačitev že prisotne barve, (3) minimizacija razlik med šaržami in (4) obarvanje brezbarvnega živila. β -karoten se uporablja kot aditiv v rastlinskih oljih, oranžnih pijačah, margarini; riboflavin (vitamin B2) pa kot dodatek v kosmičih, makaronih, klobasah, siru, mlečnih produktih in energijskih pijačah. Poleg vloge barvila se β -karoten in riboflavin uporabljata kot prehransko dopolnilo zaradi številnih pozitivnih vplivov na zdravje (Nigam in Luke, 2016). Velik potencial bakterijskih pigmentov predstavlja tudi njihovo protirakavo, antioksidativno, protivnetno in protimikrobno delovanje (Tuli in sod., 2015). Zaradi vsakoletne rasti trga z barvili (ocenjena je 10–15 % vsakoletna rast), ki poleg v živilski industriji uporabljajo tudi v tekstilni, farmacevtski in drugih industrijah, je to področje predmet intenzivnega raziskovanja in razvoja. Biotehnoške rešitve bodo omogočile razvoj novih mikrobnih sevov ali tkivnih kultur z zmožnostjo povišane produkcijo barvil.

2.8 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA ENCIMOV

Encimi so v naravi prisotni proteini, ki katalizirajo biokemijske reakcije. Encimski procesi pridobivajo na veljavi, saj niso časovno potratni, zahtevajo nizke energijske vložke, so poceni, ne-toksični in okolju prijazni (manjša poraba energije,

biorazgradljivost, manj stranskih reakcij in odpadnih produktov). Globalni trg industrijskih encimov naj bi do leta 2020 dosegel 6,2 milijarde ameriških dolarjev (Stocks, 2013).

Tudi v živilstvu so enimi povsem običajni dodatki, saj opravljajo pomembno tehnološko vlogo v proizvodnji in predelavi mnogih živil, encimske reakcije pa imajo številne prednosti pred tradicionalnimi kemijskimi postopki. Od leta 2003 za varno uporabo encimov v živilstvu skrbi organizacija EFSA, pod okriljem katere trenutno poteka evaluacija vseh živilskih encimov. (http://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/enzymes_en).

Zaradi lahke dostopnosti, hitre rasti in možnosti kultivacije v velikem merilu so mikroorganizmi primeren vir industrijskih encimov. Mikrobní encimi se vedno bolj uporabljajo v industrijskih aplikacijah, na primer živilstvu, agronomiji, medicini, v proizvodnji kemikalij in energije, predvsem pa zaradi povečanih potreb po potrošniških dobrinah, pomanjkanja naravnih virov, nujnosti znižanja proizvodnih stroškov in varovanja okolja. Poleg tega lahko s pomočjo tehnologije rekombinantne DNA in proteinskega inženiringa mikroorganizme spreminjamo v smeri večjih donosov ter tako zadostimo naraščajočim potrebam po encimih (Stocks, 2013).

Izraz *encim* (»v kvasovki«) je leta 1877 prvič uporabil Kuhne. Leta 1897 je Buchner odkril, da celični ekstrakt kvasovk katalizira nastanek etanola iz sladkorja, je ta encimski kompleks glikolitičnih encimov poimenoval *cimaza*, kar je pomenilo »encim kvasovke«. Encimi so postali cenjeni v proizvodnji zaradi hitrega in učinkovitega delovanja pri nizkih koncentracijah, pri običajnih temperaturah in vrednostih pH, zaradi visoke stopnje substratne specifičnosti (in posledično manj stranskih proizvodov), nizke toksičnosti in enostavne prekinitve njihovega delovanja. Encimi mikrobnege izvora pa so imeli poleg navedenega še naslednje prednosti (Demain, 2010):

- zaradi hitre proizvodnje in cenjenih surovin so bili bioprocesi proizvodnje encimov v velikem merilu dokaj ekonomični,
- presejalni testi potencialnih mikrobnih producentov encimov so bili enostavni,
- različne vrste mikroorganizmov so proizvajale nekoliko drugačne encime, ki so katalizirali isto reakcijo, kar je omogočalo fleksibilnost pri izbiri pogojev gojenja v bioreaktorju.

V 80. in 90. letih prejšnjega stoletja so tradicionalno uporabo rastlinskih in živalskih encimov v živilski industriji delno nadomestili mikrobní encimi, na primer:

- amilaze iz slajenega ječmena in pšenice v pivovarstvu in pekarstvu so delno zamenjale mikrobne amilaze bakterij rodu *Bacillus* in plesni rodu *Aspergillus*;
- za mehčanje mesa so uporabili proteaze plesni rodu *Aspergillus* namesto rastlinskih in živalskih proteaz;
- goveji kimozi v sirarstvu so delno nadomestili proteolitični encimi sirišča, pridobljeni s plesnimi rodu *Mucor*.

Uvedba tehnologije rekombinantne DNA je v zelo kratkem času privedla do pomembnih izboljšav lastnosti encimov. Tako smo dobili encime z boljšo termo stabilnostjo, katalitično aktivnostjo, stabilnostjo ali s spremenjeno specifičnostjo, predvsem pa se je bistveno povečala količina proizvedenih encimov (Demain, 2010).

Vendar kljub temu, da lahko z genskimi manipulacijami močno znižamo stroške proizvodnje encimov z mikroorganizmi, je uporaba le-teh v številnih aplikacijah

omejena, saj mnogi encimi niso dovolj stabilni v ekstremnih pogojih, kot so na primer nizek ali visok pH, visoka temperatura, prisotnost organskih topil. To pomanjkljivost je moč odpraviti s sodobnimi metodami proteinskega inženiringa, ki so jih v preteklosti že uspešno uporabili v primeru proteinaz, lipaz, celulaž, α -amilaz, glukamilaz in tako dosegli boljše delovanje navedenih encimov v industrijskih procesih (Singhania in sod., 2010).

Ključni koraki v bioprocesu proizvodnje encimov z mikroorganizmi so (Demain, 2010):

- izbira primerne produkcijskega seva;

Produkcijski mikroorganizmi naj bi zadostili naslednjim osnovnim zahtevam: (1) imajo status GRAS, kar je še posebej pomembno pri uporabi v živilski industriji, (2) proizvedejo velike količine encima v kratkem času, (3) encim izločajo iz celic, kar poenostavi in poceni postopke izolacije iz bioprocen brozge in čiščenja encima. Divji mikrobní sevi, izolirani iz različnih okolij, običajno proizvajajo mešanice encimov, ki so potrebni za razgradnjo kompleksnih substratov, kar je pozitivno, vendar jih je mnogokrat težko kultivirati v industrijskem merilu ali pa ne dajejo dovolj visokih donosov. Z razvojem tehnologije rekombinantne DNA je postalo mogoče klonirati gene, ki kodirajo mikrobné encime, in jih izraziti v mnogo večjih količinah kot se proizvedejo po naravni poti. Tako se na primer rekombinantni kimozin proizvaja z bakterijo *Escherichia coli*, termo stabilna amilaza z bakterijo *Bacillus licheniformis*, v kateri je gen za ta encim prisoten v več kopijah, gen za lipazo – encim, ki se uporablja v živilstvu kot emulgator, so prenesli iz vrste *Humicola* v plesen *Aspergillus oryzae*, ki proizvede 1000-krat več tega encima, in podobno.

- razvoj bioprocena;

Za proizvodnjo encimov z mikroorganizmi se uporabljajo večinoma submerzni bioproceni, kljub temu pa kultivacija na trdnih gojiščih (t. i. »solid-state« kultivacija) pridobiva na veljavi. Prednost slednje je predvsem možnost uporabe različnih odpadkov agroživilske industrije, kar bistveno poceni sam bioprocen proizvodnje encimov, negativne strani kultivaciji na trdnih gojiščih pa so težavno spremljanje bioprocenih parametrov, slabši prenos toplote in mase ter težaven prenos v večje merilo (ang. »scale-up«). Cilj optimizacije bioprocena je doseganje čim večjih izkoristkov in produktivnosti in vključuje predvsem izbiro načina kultivacije, primerne bioreaktorja in gojišča ter bioprocenih pogojev.

- zaključni postopki;

Zaključni postopki (ang. »downstream processing«) vključujejo izolacijo, čiščenje in oblikovanje encima pripravljen v končni obliki. Izbira postopka je v prvi vrsti odvisna od tega, ali se encim nahaja v notranjosti celice (znotrajcelični encimi) ali izven nje (zunajcelični encimi) ter od zahtevane stopnje čistosti končnega proizvoda. Običajno se zaključni postopki pričnejo z ločevanjem celic od preostalega medija s centrifugiranjem ali filtracijo, v primeru znotrajceličnih encimov sledi encimska ali mehanska razgradnja celic ter ponovno centrifugiranje ali filtracija, naslednji koraki pa obsegajo koncentriranje z metodami filtracije in čiščenje encimov z uporabo različnih kromatografskih metod. Cena zaključnih postopkov predstavlja običajno več kot 50 % cene celotne proizvodnje encima in je odvisna od zahtevane stopnje čistosti oziroma od tega, za kakšen namen se bo encim uporabljal. V primeru terapevtskih encimov je zahtevana več kot 99-odstotno čistost, zato je cena terapevtskih encimov mnogo višja od cene tehničnih encimov. Pri kultivaciji na trdnem gojišču sta izolacija in čiščenje encimov precej dražji kot pri submerznem načinu proizvodnje encimov (Singhania in sod., 2010; Stocks, 2013).

Uporaba mikrobnih encimov je zelo raznolika. Encimi imajo pomembno vlogo v farmacevtski in kozmetični industriji ter diagnostiki, prav tako pa hitro narašča število

encimskih aplikacij v medicini ter v industrijskih procesih, na primer v proizvodnji živalske krme, detergentov, bio-polimerov, v papirni, usnjarski, tekstilni industriji. Številni encimi se uporabljajo za okoljevarstvene namene – pri čiščenju industrijskih in komunalnih odpadkov ter recikliranju industrijskih odpadkov. Velik pomen lahko pripišemo tudi uporabi encimov v živilski industriji, v prvi vrsti s stališča hitrega povečevanja svetovne populacije in zadostne oskrbe s kakovostno in varno hrano, na drugi strani pa se odpirajo nova področja uporabe encimov, na primer za modifikacije maščob ali v proizvodnji sladil. Preglednica 3 prikazuje najpogostejšo uporabo encimov mikrobiološkega izvora v treh sektorjih živilske industrije (Monsan in O'Donohue, 2010; Singhania in sod., 2010; Singh in sod., 2016).

Preglednica 3: Uporaba nekaterih encimov mikrobiološkega izvora v živilski industriji (prirejeno po Singh in sod., 2016)

Predelovalna dejavnost	Encim	Uporaba encima	Mikroorganizmi
Proizvodnja pekovskih izdelkov	amilaza	mehkoba in obstojnost kruha	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.
	ksilanaza	izboljšanje testa	<i>Aspergillus niger</i>
	lipaza	izboljšanje testa	<i>A. niger</i>
	glukoza oksidaza	izboljšanje testa	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>
	transglutaminaza	izboljšanje testa	<i>Streptomyces</i> sp., <i>Streptoverticillium</i> sp.
Predelava mleka	kisla proteinaza	koagulacija mleka	<i>Aspergillus</i> sp.
	nevtralna proteinaza	pospešitev zorenja sirov, razgrenitev	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>A. oryzae</i>
	lipaza	pospešitev zorenja, sprememba arome sirov	<i>L. niger</i> , <i>A. oryzae</i>
	β-galaktozidaza	brezlaktozni mlečni in sirotkini proizvodi	<i>Escherichia coli</i> , <i>Kluyveromyces</i> sp.
	aminopeptidaza	pospešitev zorenja sirov	<i>Lactobacillus</i> sp.
	katalaza	proizvodnja sirov	<i>L. niger</i>
Proizvodnja pijač	transglutaminaza	zamreženje proteinov	<i>Streptomyces</i> sp.
	pektinaza	depektinizacija	<i>A. oryzae</i> , <i>Penicillium funiculosus</i>
	glukoza oksidaza	odstranitev kisika iz piva	<i>A. niger</i>
	celulaza	utekočinjanje sadja	<i>A. niger</i> , <i>Trichoderma atroviride</i>
	α-amilaza	hidroliza škroba	<i>Bacillus</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp.
	β-amilaza	hidroliza škroba	<i>Bacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.
	β-glukanaza	zmanjšanje motnosti	<i>B. subtilis</i> , <i>Aspergillus</i> sp.
	proteaza	zmanjšanje motnosti	<i>A. niger</i>
	pululanaza	saharifikacija škroba	<i>Bacillus</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp.
	naringinaza	razgrenitev	<i>A. niger</i>
	limoninaza	razgrenitev	<i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i>
	aminopeptidaza	razgradnja proteinov med maceriranjem	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>L. plantarum</i>

2.9 BIOTEHNOLOŠKA PROIZVODNJA PROTIMIKROBNIH SNOVI

Želja po podaljšanju obstojnosti živil obstaja že tisočletja. Tradicionalno so se za doseg obstojnosti in varnosti uporabljale različne metode, ki so bile odvisne od vrste živila – sušenje, soljenje, vlaganje v raztopino sladkorja, kisa ali soli in fermentacija. Vse te metode so z znižanjem količine proste vode, pH ali vnosom zaščitnih kultur oziroma njihovih metabolitov onemogočile rast kvarljivcev in patogenih mikroorganizmov. Zaradi spremembe načina življenja in posledično prehranjevanja, pa so se zahteve modernega potrošnika precej spremenile. Moderni potrošnik zahteva živilo, ki ima hkrati nizko koncentracijo sladkorja in soli, omogoča možnost hitre priprave, hkrati pa mora

biti živilo varno, obstojno in naravno. Te zahteve onemogočajo uporabo tradicionalnih tehnik konzerviranja (Bordignon in sod., 2016).

Naravne protimikrobne snovi, ki se lahko uporabljajo za mikrobiološko zaščito živil, izhajajo iz širokega spektra organizmov – živali, rastlin, gliv in bakterij. Za biotehnološko proizvodnjo so zanimive predvsem slednje, saj njihova proizvodnja ni sezonsko omejena, hkrati pa omogoča izrabo odpadkov kot substrat za rast in produkcijo zelenih produktov. Rešitve za podaljšanje varnosti in obstojnosti živil, ki jih ponuja moderna biotehnologija, temeljijo predvsem na uporabi dognanj iz tradicionalnih metod konzerviranja – fermentacije. Uporaba biotehnološko proizvedenih protimikrobnih snovi za mikrobiološko zaščito živil je tako tudi sprejemljiva za potrošnika, saj proizvodnja omenjenih snovi temelji predvsem na optimizaciji proizvodnih in separacijskih procesov in ne na uporabi gensko spremenjenih organizmov. Z biotehnološkimi procesi lahko proizvedemo več različnih produktov, ki imajo protimikrobno učinkovitost – protimikrobni metabolite, fermentate, zaščitne kulture mikroorganizmov in bakteriofage (Bordignon in sod., 2016).

Med najpomembnejše protimikrobne metabolite, ki se uporabljajo za mikrobiološko zaščito živil, spadajo bakteriocini. Bakteriocini so kratki, termostabilni peptidi, ki jih sintetizirajo bakterije. Njihova protimikrobna aktivnost je navadno usmerjena proti sorodnim rodovom, prav tako pa obstajajo bakteriocini s širokim spektrom delovanja. Komercialno najbolj zanimivi so bakteriocini grampozitivnih bakterij in sicer bakteriocini Razreda I, ki jih proizvajajo bakterije rodu *Lactococcus* (nizin in lacticin 3147) in Razreda II, ki jih proizvajajo bakterije vrste *Pediococcus acidilacti* (pediocin PA-1). Njihov spekter delovanja je omejen na grampozitivne bakterije, predvsem pa je zanimiv njihov baktericiden učinek na bakterije vrst *Listeria monocytogenes*, medtem ko je njihov učinek na gramnegativne bakterije, kvasovke in plesni zanemarljiv. Med omenjenimi bakteriocini je nizin edini, ki ima odobreno uporabo kot protimikrobni aditiv živilom in ga je WHO/FAO odobril za uporabo v proizvodnji živil že leta 1969. Večinoma se uporablja pri proizvodnji sira, mesnih izdelkov in pijač. Industrijska proizvodnja nizina poteka v obliki fermentacij z bakterijo vrste *Lactococcus lactis*, kjer se kot substrat lahko uporabi mleko, posneto mleko ali sirotka. Ko bakterije dosežejo pozno logaritemsko fazo rasti, se celice odstranijo, sledi koncentriranje, dehidracija in standardizacija formulacije, ki navadno vsebuje nizin, natrijev klorid in komponente gojitvenega medija (Burke in sod., 2013).

Poleg bakteriocinov se za mikrobiološko zaščito živil uporabljajo tudi drugi razredi protimikrobnih snovi. Natamicin, znan tudi kot pimarin, je makroliden antibiotik, katerega uporaba se je začela leta 1967 z namenom podaljšanja obstojnosti sira, dandanes pa se poleg aplikacij v živilski industriji uporablja tudi za zdravljenje keratitisa in zaščito pridelkov pred plesnijo, saj ima protimikroben učinek na širok spekter kvasovk in plesni. Industrijska proizvodnja natamicina poteka v obliki dvostopenjske submerzne fermentacije z bakterijo vrste *Streptomyces natalensis*, kjer se v prvi stopnji omenjene bakterije goji v optimiziranem vegetativnem gojišču, ki se nato uporabi za inokulacijo produkcijskega gojišča, v katerem poteka produkcija natamicina. Po zaključeni fermentaciji sledi ekstrakcija z organskim topilom in precipitacija natamicina (Bordignon in sod., 2016).

Vsekakor je med protimikrobnimi metaboliti potrebno omeniti organske kisline in njihove soli, ki imajo protimikrobno aktivnost proti glivam, gramnegativnim in grampozitivnim bakterijam in se uporabljajo kot sredstva za uravnavanje kislosti, konzerviranje in zaščito širokega spektra živil. V živilski industriji se najpogosteje

uporablja ocatno, mlečno, citronsko, fumarno, sorbično, propionsko in benzojsko kislino (Bordignon in sod., 2016). Postopki biotehnološkega pridobivanja organskih kislin so podrobneje predstavljeni v podpoglavju Biotehnološka proizvodnja organskih kislin.

Fermentati so delno prečiščeni bioaktivni pripravki v prahu, ki poleg bakteriocinov vsebujejo še druge protimikrobno učinkovite peptide, organske snovi in druge produkte fermentacije. Fermentati so proizvedeni s fermentacijo substrata z bakterijo *L. lactis*. Fermentaciji sledi separacija bakterijske biomase, sušenje medija in dodatek bakteriocinov. Tak izdelek je zaradi krajših separacijskih postopkov tudi ekonomsko bolj ugoden, vendar zaradi zakonodaje njihova uporaba v državah EU ni dovoljena (Bordignon in sod., 2016; Burke in sod., 2013).

Uporaba zaščitnih kultur je izmed vseh do sedaj naštetih produktov najbližje tradicionalnim postopkom konzerviranja in zaščite živil, saj se uporabljajo kulture mikroorganizmov, ki so bile izolirane iz tradicionalnih fermentiranih izdelkov. Lahko se uporabljajo kot samostojne starter-kulture ali kot njihov dodatek. Primer sta že omenjeni mlečnokislinski bakteriji *L. lactis*, ki se uporablja v proizvodnji sira in bakterije rodu *Pediococcus*, ki se uporabljajo pri proizvodnji fermentiranih mesnih izdelkov. Uporaba selekcioniranih kultur omogoča produkcijo zaščitnih snovi kot so bakteriocini, organske kisline in drugih protimikrobnih snovi v izdelku samem. Da se organizem lahko uporabi v začetniški kulturi, mora imeti status GRAS, ter prestati selekcijske postopke, s katerimi se preveri njegovo primernost za proizvodnjo določenega tipa izdelka, genetsko stabilnost ter optimizirati parametre gojenja in zaključne postopke, ki omogočajo njegovo kultivacijo v komercialne namene (Burke in sod., 2013).

Bakteriofagi so virusi, ki za svoje razmnoževanje potrebujejo gostitelja – bakterijo. Čeprav je njihova protimikrobna učinkovitost znana že desetletja, njihov komercialen potencial zaradi pojava multirezistentnih sevov patogenih bakterij postaja zanimiv šele v zadnjih nekaj letih – prvi produkt, ki je bil odobren za komercialno uporabo v humani prehrani za zaščito pred bakterijo vrste *L. monocytogenes* je bil odobren v ZDA s strani Ameriške administracije za hrano in zdravila šele leta 2006. Od takrat je na trg prišlo še nekaj produktov, ki so vsebovali bakteriofage, vendar v EU v okviru splošne evropske zakonodaje še vedno niso bili odobreni kot neposreden dodatek živilom. Da se bakteriofag lahko uporabi za zaščito živil, mora izpolnjevati naslednje kriterije: razmnoževanje izključno z litičnim ciklom, delovanje na širok nabor gostiteljskih bakterij, znana celotna sekvenca genoma, odsotnost sposobnosti transdukcije DNA, sposobnost propagacije v ne-patogenem gostiteljskem organizmu, klinična študija ne sme pokazati na stranske učinke njegove uporabe, sposobnost stabilnega hranjenja in prenosa v industrijsko proizvodnjo (FSA, 2016; Kazi in Annapure, 2016).

Čeprav se omenjene protimikrobne učinkovine lahko uporabljajo z nekaterimi fizikalno-kemijskimi metodami konzerviranja, se je potrebno zavedati, da univerzalne učinkovine ni, zato je potrebno prilagoditi izbor zaščitnega sredstva za vsak tip izdelka posebej. Prav tako se je potrebno zavedati, da ostaja veliko naravnih protimikrobnih snovi še vedno nepreizkušenih in še veliko več neodkritih, kar predstavlja dober obet za zagotavljanje mikrobiološke zaščite živil v živilsko-predelovalni verigi v prihodnosti.

3 ZAKLJUČEK

V obsegu te kratke publikacije smo lahko opisali le nekatere večje skupine aditivov za uporabo v živilstvu, ki jih proizvajamo s pomočjo biotehnoloških postopkov. Kot je razvidno, danes biotehnološka proizvodnja aditivov s pomočjo mikroorganizmov zelo

pogosto nadomešča kemijsko sintezo ali izolacijo iz rastlinskih in drugih naravnih virov, predvsem zaradi enostavnega gojenja in hitre rasti mikroorganizmov, njihove zmožnosti izkoriščanja sekundarnih surovin, manjše porabe energije, višjih donosov in okolju prijaznih tehnologij. V luči novejših pristopov trajnostne proizvodnje hrane, novejših pristopov krožnega gospodarstva in bio-gospodarstva nasploh, bodo imeli biotehnološki pristopi v proizvodnji aditivov v prihodnosti prav gotovo še večji pomen.

4 VIRI

- Abedi E. Sahari A.M. 2014. Long-chain polyunsaturated fatty acids sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Science and Nutrition*, 2, 5: 443–463
- Bordignon S.E., de Carvalho J.C., Gelinski J.M.L.N., Lopes da Silva A. L., Soccol V. T., Soccol C. R. 2016. Natural Antimicrobial Compounds. V: *Biotechnological production of natural ingredients for food industry*. Lemos Bicas J., Marostica M.R., Pastore G.M. (eds.). Sharjah, Bentham Science Publishers: 406–434
- Burke D.G., Cotter P.D., Ross R. P. 2013. Microbial production of bacteriocins for use in foods. V: *Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals*. McNeil B., Archer D., Giavasis I., Harvey L. (eds.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 353–384
- Carroll A.L., Desai S.H., Atsumi S. 2016. Microbial production of scent and flavor compounds. *Current Opinion in Biotechnology*, 37: 8–15
- de Cock, P. 2012. Erythritol. V: *Alternative sweeteners*. O'Brien-Nabors L. (ur.). CRC Press Boca Raton: 249–263
- Demain A.L. 2010. History of industrial biotechnology. V: *Industrial biotechnology, Sustainable growth and economic success*. Soetaert W. (ed.), Vandamme E.J. (ed.). Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 64–67
- Eggeling L., Pfefferle W., Sahm H. 2006. Amino acids. V: *Basic biotechnology*. Ratledge C., Kristiansen B. (eds.). 3rd ed. Cambridge, University Press: 335–357
- European Commission, Food improvement agents, Enzymes: http://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/enzymes_en (maj 2017)
- Fang H., Kang J., Zhang D. 2017. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives. *Microbial Cell Factories*, 16: 15
- FSA. 2016. Final Report: Systemic and critical review on the potential use of bacteriophage on foods. Food Safety Standards: 160 str. <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/fs102079finalreport.pdf>
- Ghaffar T., Irshad M., Anwar Z., Aqil T., Zulifqar Z., Tariq A., Kamran M., Ehsan N., Mehmood S. 2014. Recent trends in lactic acid biotechnology: a brief review on production to purification. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7: 222–229
- Gonçalves F.A., Colen G., Takahashi J.A. 2014. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. *The Scientific World Journal*, 2014: 476207
- Inglett G.E. 1976. History of Sweeteners - Natural and Synthetic. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2, 1: 207–214
- Jinap S., Hajebe P. 2010. Glutamate. Its applications in food and contribution to health. *Appetite*, 55, 1: 1–10
- Kazi M. Annappure U.S. 2016. Bacteriophage control of foodborne pathogens. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 3: 1355–1362
- Krings U., Berger R.G. 1998. Biotechnological production of flavours and fragrances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49: 1–8
- Kubicek C. P., Karaffa L. 2006. Organic acids. V: *Basic biotechnology*. Ratledge C., Kristiansen B. (eds.). 3rd ed. Cambridge, University Press: 359–380
- Ledesma-Amaro R., Serrano-Amatriain C., Jiménez A., Revuelta J.L. 2015. Metabolic engineering of riboflavin production in *Ashbya gossypii* through pathway optimization. *Microbial Cell Factories*, 14, 163
- Max B., Salgado J.M., Rodríguez N., Cortés S., Converti A., Domínguez J.M. 2010. Biotechnological production of citric acid. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 862–875
- Monsan P., O'Donohue M.J. 2010. Industrial biotechnology in the food and feed sector. *Industrial biotechnology, Sustainable growth and economic success*. Soetaert W., Vandamme E. J. (eds.). Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 351–383
- Narayanan N., Roychoudhury P. K., Srivastava A. 2004. L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7, 2: 167–178
- Nigam N.P.S., Luke J.S. 2016. Food Additives: Production of microbial pigments and their antioxidant properties. *Current opinion in food science*, 7: 93–100
- Philippe R.N., De Mey M., Anderson J., Ajikumar P.K. 2014. Biotechnological production of natural zero-calorie sweeteners. *Current Opinion in Biotechnology*, 26: 155–161

- Randhawa M.A., Ahmed A., Akram K. 2012. Optimization of lactic acid production from cheap raw material: sugarcane molasses. *Pakistan Journal of Botany*, 44, 1: 333–338
- Ratledge C. 2013. Microbial production of polyunsaturated fatty acids as nutraceuticals. V: *Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals*. McNeil B., Archer D., Giavasis I., Harvey L. (eds.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 531–558
- Schmid R., Schmidt-Dannert C. 2016. *Biotechnology: an illustrated primer*. Weinheim, Wiley-VCH: 399 str.
- Schrader J. 2007. Microbial Flavour Production. V: *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berger R. G. (ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 507–570
- Singh R., Kumar M., Mittal A., Mehta P. K. 2016. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6, 174: 15
- Singh R., Kumar M., Mittal A., Mehta P. K. 2017. Microbial metabolites in nutrition, healthcare and agriculture. *3 Biotech*, 7, 1: 15
- Singhania R.R., Patel A. K., Pandey A. 2010. The industrial production of enzymes. V: *Industrial biotechnology, Sustainable growth and economic success*. Soetaert W., Vandamme E.J. (eds.). Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 207–225
- Starling S (2008). "DSM vitamin plant gains green thumbs-up". *Decision News Media SAS*.
- Stocks, S. M. 2013. Industrial enzyme production for the food and beverage industries: process scale up and scale down. V: *Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals*. McNeil B., Archer D., Giavasis I., Harvey L. (eds.). Cambridge, Woodhead Publishing: 144–172
- Survase S.A., Bajaj I.B., Singhal R.S. 2006. Biotechnological Production of Vitamins. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 3: 381–396
- Tuli H.S., Chaudhary P., Beniwal V., Sharma A.K. 2015. Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. *Journal of food science and technology*, 52: 4669–4678
- Venil C.K., Zakari Z.A., Ahmad W.A. 2013. Bacterial pigments and their applications. *Process biochemistry*, 48: 1065–1079

OCENA TVEGANJ POVEZANIH Z ADITIVI V ŽIVILIH

Metka FILIPIČ¹ in Barbara JERŠEK²

Povzetek: Aditivi za živila predstavljajo preko 2500 različnih naravnih in sintetično pridobljenih snovi, ki se lahko dodajajo živilom. Za vsak aditiv je določena vrsta živil v katerih se lahko uporablja in največja vsebnost. Le-ta je opredeljena z največjo dopustno vsebnostjo (MPL) ali kot *quantum satis* (QS). Ta vrednost je določena na osnovi rezultatov ocene varnosti aditiva, ki vključuje fizikalno-kemijske lastnosti, način pridobivanja, predvideno uporabo in oceno izpostavljenosti ter toksikološke študije. Ocena izpostavljenosti aditivu se določi na več načinov: i) kot izpostavljenost potrošnika MPL in ii) kot izpostavljenost potrošnika dejanskim vsebnostim aditiva v živilih. Pri slednjem načinu se upošteva a) analitsko pridobljene vsebnosti aditiva v živilih ali b) vsebnosti pri katerih se k a) doda še podatke o analitsko pridobljenih vsebnostih aditiva v drugih dodatkih živilom. Pri oceni izpostavljenosti se upošteva tudi različne kombinacije podatkov o uporabi različnih vrst živil in različnih vsebnostih aditiva, kot tudi različne skupine potrošnikov. Dobljene ocene izpostavljenosti aditivu omogočajo ovrednotenje izpostavljenosti glede na sprejemljivi dnevni vnos (ADI). Osnova za določitev vrednosti ADI so toksikološke študije. Toksikološke študije aditiva vključujejo i) toksikokinetiko, ii) genotoksičnost, iii) toksičnost, ki zajema sub-kronično in kronično toksičnost ter karcinogenost in iv) reproduktivno in razvojno toksičnost v 3 stopnjah. Glede na dobljene rezultate se določi NOAEL kot najvišji odmerek pri katerem škodljiv učinek ni bil opažen in izračuna ADI. ADI se določi za snovi, za katere je možno dokazati prag toksičnega delovanja, medtem ko za snovi, ki glede na toksikološke podatke in podatke o uživanju, ne predstavljajo tveganja, ADI ni določen. Za snovi za katere ni možno določiti varne meje izpostavljenosti se ADI ne določi in takšne snovi niso sprejemljive kot aditivi za živila. Kot primeri so v prispevku povzete nove ocene tveganja benzojske kisline, natrijevega, kalijevega in kalcijevega benzoata, sorbinske kisline, kalijevega in kalcijevega sorbata, titanijevega dioksida in steviol glikozidov.

Ključne besede: aditivi za živila, ocena tveganja, ocena izpostavljenosti, toksikološke študije

ASSESSMENT OF RISKS RELATED TO FOOD ADDITIVES

Abstract: Food additives are group of more than 2500 different naturally and synthetically produced substances which may be added to foods. Each additive is approved to be used in a certain type of food and for each type of food the maximum amount is defined by the maximum permitted level (MPL) or as *quantum satis* (QS). This value is determined based on the results of risk assessment of food additive, which include a description of the physicochemical properties, production method, proposed uses, exposure assessment and toxicology studies. Exposure assessment to food additive is determined with different scenarios: i) regulatory maximum level exposure assessment scenario and ii) refined exposure assessment scenario. The latter scenario takes into account a) obtained analytical amounts of the additive and. b) where to a) value the amounts of additive obtained in other food additives in certain food are added. For the exposure assessment also different combinations of data from the use of different types of foods at different levels of additive as well as different groups of consumers are taken into account. The resulting exposure assessment to additive enables evaluation of the exposure in relation to acceptable daily intake (ADI). The basis for determining ADI is toxicological studies. Toxicological studies of additive include i) toxicokinetics, ii) genotoxicity, iii) toxicity, which includes sub-chronic and chronic toxicity, and carcinogenicity, and iv) reproductive and developmental toxicity using a 3 stage approach. Based on the obtained results NOAEL is determined as the highest dose at which adverse effect was not observed and ADI is calculated. ADI is determined for substances for which it is possible to prove the threshold of toxic action, while for the substances that according to the toxicological data and data on consumption do not pose a risk, ADI is not specified. For substances for which it is not possible to determine safe exposure limits ADI is not determined and such substances are not acceptable as food additives. As examples summaries of new risk assessments of benzoic acid, sodium, potassium and calcium benzoate, sorbic acid, potassium and calcium sorbate, titanium dioxide and steviol glycosides are presented.

Key words: food additives, risk assessment, exposure assessment, toxicological studies

¹ prof. dr., Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Večna pot 111, 1000 Ljubljana; e-mail: metka.filipic@nib.si

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 100 Ljubljana, e-mail: barbka.jerssek@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Aditivi za živila so snovi, ki se ne uživajo kot živila in niso tipične sestavine živil ne glede na njihovo prehransko vrednost, in so živilom namenoma dodani s ciljem pridobiti oziroma ohraniti želene lastnosti živil. Uporabljajo se v proizvodnji, pripravi, obdelavi, pakiranju ali transportu živil z različnim namenom, npr. kot konzervansi za ohranjanje mikrobiološke stabilnosti, barvila in sladila za ohranjanje ali pridobivanje značilnih senzoričnih lastnosti, antioksidanti za preprečevanje oksidacije, emulgatorji za stabilizacijo emulzij (Codex Alimentarius, Uredba (ES) št. 1333/2008). Dandanes oskrba z živilo brez aditivov ne bi bila mogoča, saj urbanizacija in globalni trg živil pomenita, da se vedno več živil v večji ali manjši meri predela, skladišči in transportira do uporabnikov (Carocho in sod., 2014). Za zagotovitev kakovostnih in varnih živil je potrebno preprečiti kontaminacijo in kvar živil. Zato se poleg drugih zahtev v proizvodnji in prometu z živilo, uporabljajo aditivi za živila. Posamezen aditiv je lahko uporabljen le v vnaprej določenih živilih in vnaprej določenih vsebnostih. V EU so vsi aditivi za živila, tako dovoljeni kot nedovoljeni, označeni z E-številko (črka E in trimesna številka). V Uredbi Komisije (EU) št. 1129/ 2011 in Uredbi (ES) št. 1333 /2008 je poleg E-številk opredeljena tudi najvišja dovoljena vsebnost aditiva (mg/kg) in kategorija ali vrsta živila, v katerem se aditiv sme uporabljati.

Čeprav se je število in obseg raziskav na področju aditivov za živila, njihovem vplivu na zdravje potrošnikov in metodiki njihovega določanja v zadnjem desetletju zelo povečalo, so aditivi še vedno predmet številnih polemik (Weiner 2016, Carocho in sod., 2015, Olusegun in Adegoke, 2015). Varnost aditivov za živila ocenjujeta SCF (Znanstveni odbor za hrano, ang. Scientific Committee on Food) in EFSA (Evropska agencija za varnost hrane, ang. European Food Safety Authority). EFSA je v letu 2010 začela obsežen program ponovnega ocenjevanja že odobrenih aditivov za živila, ki naj bi bil dokončan za barvila, konzervanse in antioksidante do 2015, za emulgatorje, stabilizatorje in želirna sredstva do 2016 in za sladila razen aspartama do 2020 (Uredba (EU) št. 257/2010).

Namen prispevka je predstaviti ocenjevanje varnosti aditivov za živila in z njimi povezana tveganja.

2 OCENJEVANJE VARNOSTI ADITIVOV ZA ŽIVILA

Varnost aditivov za živila se proučuje pri odobritvi vsakega novega aditiva in tudi potem, ko je bil določen aditiv že odobren, če novejša raziskava pokažejo, da gre za povečano tveganje. Po opravljeni oceni se uporaba aditiva lahko spremeni tako, da se spremeni dopustna vsebnost za določeno živilo ali da se uporaba prepove. Enak postopek odobritve velja tudi za naravne aditive za živila.

Ocena tveganja je postopek, ki obsega štiri stopnje: identifikacijo nevarnosti, karakterizacijo nevarnosti, oceno izpostavljenosti in karakterizacijo tveganja. Na osnovi te ocene se definira ADI (ang. acceptable daily intake) oz. sprejemljiv dnevni vnos, ki je znanstveno dokazana količina snovi, ki jo posameznik ali populacija ljudi lahko dnevno zaužije brez tveganja za zdravje.

Za ocenjevanje varnosti novega aditiva za živila ali za podaljšanje uporabe že odobrenega aditiva se uporablja postopek, ki vsebuje na 4 sklope (preglednica1) (EFSA, 2012a):

1. Kemijske lastnosti in specifikacije

V prvem sklopu so opisane kemijske lastnosti aditiva, določena so možna tveganja pri njegovi proizvodnji (npr. nečistoče, ostanki kontaminantov) in definirani so testni materiali glede na specifikacije.

2. Predhodne odobritve in evalvacije
V drugem sklopu je podan pregled že opravljenih ocen aditiva in že dobljeni zaključki.
3. Predvidena uporaba in ocena izpostavljenosti
V tretjem sklopu je ocena izpostavljenosti aditivu preko uživanja živil. Pri tem se upošteva predvidena uporaba aditiva (vsebnost in vrsta živil) in uživanje živil pri različnih skupinah potrošnikov.
4. Toksikološke študije
V četrtem sklopu je opisan pristop in metode *in vitro* in *in vivo*, ki bodo uporabljene za identifikacijo in karakterizacijo tveganj aditiva, v povezavi s proizvodnjo aditiva in uživanjem živil, ki vsebujejo aditiv. Načrtovanje toksikoloških študij temelji na stopenjskem pristopu, kjer je obseg zahtevanih toksikoloških podatkov uravnotežen s tveganjem. To pomeni uporabo začetnih manj kompleksnih testov za pridobitev osnovnih ključnih podatkov za identifikacijo in karakterizacijo nevarnosti (Stopnja 1). V kolikor ti podatki ne zadoščajo se na njihovi osnovi načrtujejo nadaljnja testiranja v višjih stopnjah (Stopnja 2 in 3) (slika 1). Ta pristop upošteva tudi dobrobit poskusnih živali z upoštevanjem principa 3R (ang. replacement, refinement, reduction; zamenjava, izboljšanje, zmanjšanje).

Preglednica 1: Elementi ocene varnosti živilskega aditiva (prirejeno po EFSA, 2012a in Blaauboer in sod., 2016)

Elementi ocene varnosti
1 Uvod
1.1 Namen ocene varnosti: npr. kako se aditiv uporablja
2 Tehnični podatki o aditivu
2.1 Fizikalno kemijske lastnosti aditiva
2.2 Specifikacija aditiva
2.3 Proizvodnja aditiva
2.4 Analizne metode za določitev aditiva v živilih
2.5 Možne reakcije v živilih
2.6 Upravičenost in namen uporabe aditiva
2.7 Uporabljene vsebnosti aditiva
2.7.1 Podatki o uporabljenih vsebnostih v živilih pridobljenih s strani industrije*
2.7.2 Podatki o vsebnostih aditiva v živilih pridobljeni s strani članic EU*
2.8 Informacije o predhodnih odobritvah in ocenah varnosti
2.9 Ocena izpostavljenosti
2.9.1 Podatki o uporabi živil, ki lahko vsebujejo aditiv
2.9.2 Izpostavljenost potrošnikov aditivu preko živil
2.9.3 Glavne skupine živil, ki vsebujejo aditiv
2.9.4 Statistična analiza
3 Biološki in toksikološki podatki
3.1 Absorpcija, distribucija, metabolizem in izločanje (ADME)
3.1.1 Študije <i>in vitro</i>
3.1.2 Študije <i>in vivo</i>
3.2 Toksikološki podatki
3.2.1 Akutna oralna toksičnost
3.2.2 Kratkotrajna in sub-kronična toksičnost
3.2.3 Genotoksičnost
3.2.4 Kronična toksičnost in rakotvornost
3.2.5 Reprodukcijska toksičnost (plodnost in teratogenost)
3.2.6 Alergenost, preobčutljivost in intoleranca
3.2.7 Druge študije
4 Zaključki in priporočila

* če se je aditiv že uporabljal, sicer se predvidi, kakšne vsebnost naj bi se uporabljale

2.1 OCENJEVANJE IZPOSTAVLJENOSTI ADITIVU ZA ŽIVILA

Za oceno izpostavljenosti potrošnikov aditivu za živila se uporablja podatke o uporabljenih vsebnostih aditiva v posameznem živilu oziroma kategoriji živil in podatke o uporabi teh živil. Vsebnost aditiva v živilu je lahko določena kot najvišja dovoljena vsebnost aditiva v živilih (MPL, ang. maximum permitted level) ali kot *quantum satis* (QS). Za realnejšo oceno izpostavljenosti aditivu je potrebno pridobiti dejanske vsebnosti aditiva, ki se je uporabljal v živilih. Te podatke pridobi EFSA na več načinov:

- z zbiranjem podatkov o dejanski uporabi aditiva v proizvodnji živil pridobljenih s strani živilske industrije,
- in z zbiranjem podatkov o rezultatih analiz živil o vsebnostih živilskega aditiva v posameznih živilih pridobljenih s strani članic EU.

Podatke o uporabi živil, ki vsebujejo aditiv se zbere na več načinov:

- Iz evropske baze podatkov The EFSA Comprehensive European Food Consumption Database (<https://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>), kjer se zbirajo rezultati o uporabi živil oz. različnih kategorij živil s strani članic EU. Za oceno izpostavljenosti živilskemu aditivu se uporaba določi za 6 različnih starostnih skupin in sicer za dojenčke (1-4 mesece), malčke (5-35 mesecev), otroke (3-9 let), mladostnike (11-17 let), odrasle (18-64 let) in starostnike (65 in več let).
- Iz evropske baze različnih kategorij živil, ki lahko vsebujejo živilski aditiv The EFSA Comprehensive Database FoodEx classification system food codes (<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-804>), se izbere tiste kategorije živil, ki lahko vsebujejo aditiv in pri oceni izpostavljenosti se upošteva tri različne vsebnosti: vrednost MPL, povprečna analitsko pridobljena vsebnost aditiva in največja analitsko pridobljena vsebnost aditiva.

Ocena izpostavljenosti živilskemu aditivu je lahko narejena glede na različne možnosti kombiniranja podatkov o vsebnosti aditiva in o uporabi živil, ki ta aditiv vsebujejo:

1. Kot izpostavljenost potrošnika najvišji dovoljeni vsebnosti aditiva v živilih (ang. regulatory maximum level exposure assessment scenario). Ta ocena izpostavljenosti aditivu je najbolj konzervativna in najbolj stroga, saj predvideva vseživljensko izpostavljenost najvišji dovoljeni vsebnosti aditiva v živilih.
2. Kot izpostavljenost potrošnika dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario) se oceni:
 - 2.1 izpostavljenost glede na analitsko pridobljene vsebnosti aditiva, ki se ga dodaja direktno v živila,
 - 2.2 izpostavljenost glede na analitsko pridobljene vsebnosti aditiva, ki se ga dodaja direktno v živila in glede na analitsko pridobljene vrednosti o vsebnosti aditiva glede na druge dodatke živilom.

Ti dve oceni izpostavljenosti upoštevata dejansko pridobljene analitske podatke o vsebnostih aditiva v posameznih živilih pridobljene s strani članic EU in zato je omejitvev v številu pridobljenih podatkov. Pri ocenah izpostavljenosti se upošteva tudi dva pristopa:

- V t. i. »brand-loyal consumer scenario« se predvideva, da je potrošnik v dolgem časovnem obdobju izpostavljen najvišji vsebnosti aditiva v eni kategoriji živil in ocena se določi tako, da se uporabi:
 - kombinacijo podatkov o uporabi te kategorije živil in podatkov o najvišji vsebnosti aditiva pridobljenih s strani industrije ali najvišji analitski vsebnosti (upošteva se tisto vrednost, ki je večja)

- in kombinacijo podatkov o uporabi drugih kategorij živil in podatkov o povprečnih vsebnostih ali povprečnih analitskih vsebnostih (upošteva se tisto vrednost, ki je večja)
- V t.i. »non-brand-loyal consumer scenario« se predvideva, da je potrošnik v dolgem časovnem obdobju izpostavljen povprečni vsebnosti aditiva glede na podatke pridobljenih s strani industrije ali najvišji analitski vsebnosti (upošteva se tisto vrednost, ki je večja) in ocena določi tako, da se uporabi:
 - uporabi se kombinacijo podatkov o uporabi živil in podatkov o povprečni vsebnosti aditiva pridobljenih s strani industrije ali povprečni analitski vsebnosti (upošteva se tisto vrednost, ki je večja).

Vse ocene izpostavljenosti aditivu se izračunajo kot povprečna izpostavljenost in drugič kot visoka izpostavljenost (95 percentilov) in vrednosti primerjajo z vrednostmi ADI.

2.2 BIOLOŠKI IN TOKSIKOLOŠKI PODATKI O ADITIVU ZA ŽIVILA

Zahtevani toksikološki podatki za aditive vključujejo podatke štirih glavnih področj: a) toksikokinetiko, b) genotoksičnost, c) toksičnost, ki obsega sub-kronično in kronično toksičnost ter karcinogenost in d) reproduktivno in razvojno toksičnost. Strategija testiranja predvideva 3 stopnje. Stopnja 1 obsega minimalen obseg podatkov, ki je obvezen za vse snovi. Sem spadajo podatki o absorpciji (npr. sistemska dostopnost), podatki o genotoksičnosti *in vitro* in subkronična toksičnost. Testiranja vključena v Stopnjo 2 so obsežnejša in se zahtevajo za aditive, ki so v Stopnji 1 pokazali, da se absorbirajo in/ali so (geno)toksični. Testiranja v Stopnji 3 se zahtevajo odvisno od primera do primera. Praviloma rezultati testov višjih stopenj nadomestijo rezultate testov nižjih stopenj.

2.2.1 Toksikokinetika

Toksikokinetične študije dajo podatke o absorpciji, distribuciji, presnovi in izločanju (Eng. ADME absorption, distribution, metabolism, excretion) substance. V Stopnji 1 se prouči sistemska dostopnost, da se ugotovi ali se substanca ali njeni produkti razgradnje absorbirajo prek prebavnega trakta. Upoštevajo se podatki o fizikalno kemijskih lastnostih (npr. molekulska masa, hidro- ali lipo-filnost) snovi ter podatki *in vitro* in *in vivo* študij biološke dostopnosti. V primeru dokazane zanemarljive absorpcije nadaljne toksikološke študije na višjih stopnjah niso potrebne kadar so tudi rezultati genotoksičnosti negativni in substanca ni bila toksična pri testiranju subkronične toksičnosti v Stopnji 1. V kolikor pa absorpcija ni zanemarljiva, so potrebni nadaljnji podatki o absorpciji, porazdelitvi, presnovi in izločanju (ADME) vključno z identifikacijo in kvantifikacijo metabolitov (Stopnja 2). Potrebna je študija *in vivo* z enkratnim odmerkom testirane substance (OECD TG 417), da se določi osnovne toksikokinetične parametre kot so plazemska koncentracija po različnih časih dajanja, maksimalna koncentracija, razplovni čas izločanja, biološka dostopnost. V primeru, da se ugotovi omejeno ali upočasnjeno izločanje ali kateri koli drugi pokazatelj možne bioakumulacije, je potrebna študija *in vivo* za določitev toksikokinetičnih podatkov po večkratnem dajanju testirane substance, včasih se zahtevajo tudi toksikokinetični podatki dobljeni s študijo na prostovoljcih (Stopnja 3).

2.2.2 Genotoksičnost

Genotoksične snovi povzročajo poškodbe DNA, poškodbe kromosomov in mutacije. Genetske spremembe spolnih in telesnih (somatskih) celic so povezane z resnimi zdravstvenimi posledicami do katerih lahko pride tudi pri izpostavljenosti zelo nizkim koncentracijam (EFSA, 2011). Namen testiranja genotoksičnosti je a) identifikacija snovi,

ki lahko pri ljudeh povzročijo dedne genetske poškodbe; b) ocena potencialne karcinogenosti v primerih, ko podatki o karcinogenosti niso znani in c) prispevek k razumevanju mehanizmov delovanja kemijskih karcinogenov.

Za testiranje genotoksičnosti aditivov se uporablja stopenjski pristop v skladu z priporočili EFSA znanstvenega odbora (EFSA, 2011). V Stopnji 1 se izvedejo testiranja, ki bodo zaznala genske mutacije ter strukturne in številčne kromosomske aberacije. V skladu s to zahtevo je za vse aditive obvezno testiranje s tako imenovano osnovno baterijo testov: a) bakterijski test povratnih mutacij (OECD TG 471) in b) *in vitro* test mikrojedr na sesalskih celicah (OECD TG 487). V primeru nedvoumno negativnih rezultatov obeh testov *in vitro* se z dovoljšnjo zanesljivostjo sklepa, da snov ne predstavlja nevarnosti zaradi genotoksičnosti. V primeru dvoumnih rezultatov je potrebno te razjasniti z dodatnimi testi *in vitro* in/ali *in vivo*. V primeru pozitivnega rezultata katerega koli končnega učinka osnovne baterije testov so potrebne nadaljnje študije *in vivo* (Stopnja 2), da se ugotovi ali se v *in vitro* genotoksičnost izrazi tudi v *in vivo* pogojih testiranja. Primerni testi za *in vivo* testiranje genotoksičnosti so a) *in vivo* test mikrojedr (OECD TG 474) za zaznavanje strukturnih in številčnih kromosomskih aberacij, b) *in vivo* test komet (OECD TG 489), ki zaznava primarne poškodbe DNA in c) test z transgenimi glodavci (OECD TG 488), ki zaznava mutacije. V primeru pozitivnega rezultata se sklepa, da je snov genotoksična *in vivo*. V primeru, da so rezultati testiranja *in vivo* negativni in je na osnovi toksikokinetičnih podatkov dokazano, da je testirana snov dosegla tarčno tkivo, se sklepa, da snov ni genotoksična *in vivo*. Genotoksičnost *in vivo* se smatra, da je sam po sebi škodljiv učinek tudi, če so študije karcinogenosti negativne, ker je genotoksičnost vpletena tudi v nastanek drugih degenerativnih bolezni ter dednih bolezni pri ljudeh. Zaradi tega snovi, ki so genotoksične *in vivo*, niso sprejemljive za uporabo kot aditivi živilom.

2.2.3 Toksičnost (subkronična, kronična in karcinogenost)

Študije toksičnosti dajo podatke o spremembah kliničnih biokemijskih parametrov krvi in urina ter o patoloških in histopatoloških spremembah organov in tkiv po podaljšani izpostavljenosti aditivu prek oralnega vnosa. Klinična opažanja lahko dajo tudi podatke o učinkih na živčevje in razvoj živčevja.

V Stopnji 1 je potrebno izvesti subkronično študijo na glodavcih izpostavljenih 90 dni (OECD TG 408). V kolikor je opažena toksičnost, je potrebno v Stopnji 2 izvesti študijo kronične izpostavljenosti (OECD TG 407), ki lahko pokaže toksične učinke, ki se v subkronični študiji niso pokazale, ali pa potrdi toksične učinke pri enakih ali nižjih odmerkih, kot so bili uporabljeni v subkronični študiji. V kolikor je potrebno v Stopnji 2 izvesti študijo kronične toksičnosti in karcinogenosti sta to lahko ločeni študiji (OECD TG 452 in 451) ali pa je kombinirana študija (OECD TG 453). Večinoma se te študije izvedejo na podganah, včasih pa je potrebno za določitev specifičnih učinkov testiranje izvesti tudi na drugih živalih. V nekaterih primerih je potrebno raziskati tudi način delovanja (Stopnja 3).

2.2.4 Reproduktivna in razvojna toksičnost

Študija subkronične toksičnosti v Stopnji 1 da le omejene podatke o morebitni reproductivni toksičnosti in nobenih o razvojni toksičnosti. Na splošno se študije reproductivne in razvojne toksičnosti zahtevajo za substance, ki so sistemsko dostopne – se absorbirajo. Zahtevajo se tudi, če so bili pri subkronični študiji opaženi učinki na reproductivne organe. Te študije sestavljata test prenatalne razvojne toksičnosti (OECD

TG 414) na zajcih in podaljšana enogeneracijska študija reproduktivne toksičnosti (OECD TG 443). Ocena tveganja lahko temelji na dobljenih podatkih teh študij, lahko pa so potrebne dodatne študije (Stopnja 3); npr. učinki na hormonski sistem, razvojna nevrotoksičnost in način delovanja.

2.2.5 Druge študije

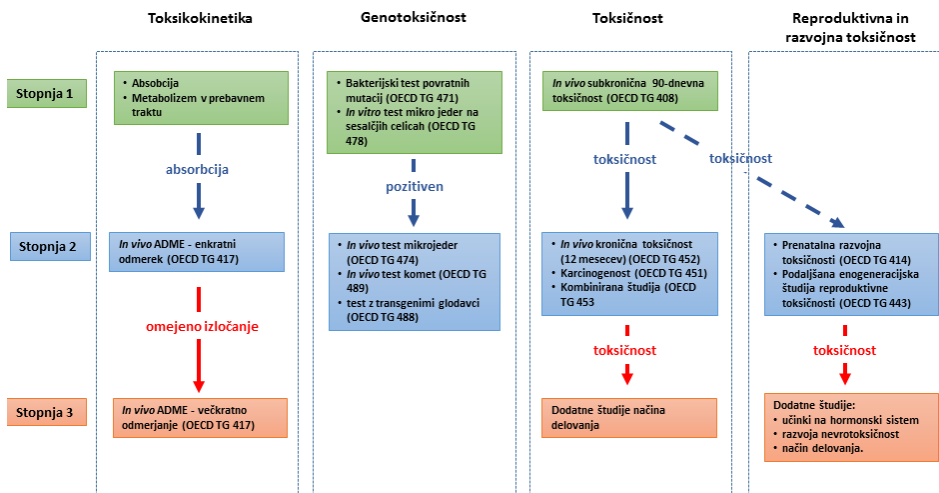
Poleg teh glavnih področij za katere so potrebni toksikološki podatki, se za oceno tveganja lahko zahtevajo tudi druge študije npr. študije imunotoksičnosti, preobčutljivosti in netolerance, za katere pa ni vedno na voljo ustreznih validiranih eksperimentalnih modelov. Indikacije možne imunotoksičnosti je možno dobiti iz študij subkronične in kronične toksičnosti in v kolikor se takšne indikacije pokažejo, se v Stopnji 3 lahko zahteva raziskave mehanizmov delovanja, da se oceni njihovo relevantno za oceno tveganja.

2.3 IZRAČUN SPREJEMLJIVEGA DNEVNEGA VNOSA (ADI)

Glavni namen ocene tveganja aditivov v živilih je izračun sprejemljivega dnevnega vnosa – ADI. Na osnovi toksikoloških podatkov se za najobčutljivejši toksikološki učinek od vseh opaženih določi NOAEL (ang. No observed adverse effect level), ki je najvišji odmerek pri katerem škodljiv učinek ni bil opažen. Za izračun ADI je NOAEL potrebno deliti z varnostnimi faktorji, ki upoštevajo nezanesljivosti zaradi ekstrapolacije podatkov iz živalskih poskusov na ljudi in razlik med posamezniki. Na splošno se uporablja varnostni faktor 100. Manjši faktor je možno uporabiti, če so na voljo podatki študij na ljudeh, večji pa, kadar je potrebno upoštevati še dodatne negotovosti. ADI se določi za snovi za katere je možno dokazati prag toksičnega delovanja.

Vrednost ADI je skupaj s podatki ocene izpostavljenosti osnova za določitev največje dopustne vsebnosti aditiva za posamezno živilo. Za nekatere aditive vrednost ADI ni določena. Na primer za substance z zelo nizko toksičnostjo, ki na osnovi toksikoloških podatkov in podatkov o uživanju, ne predstavljajo tveganja npr. citronska kislina in citrati (E330-E333) ADI ni določen. Za takšne aditive se uprablja t.i. *quantum satis*, ki pomeni, da vsebnost aditiva za živilo ni numerično določena in da naj se aditiv uporablja skladno z dobro proizvodno prakso v vsebnostih, ki niso višje od nujno potrebnih za doseganje želene funkcije, in da ne zavajajo potrošnika (Uredba (ES) št. 1333/ 2008).

Za snovi za katere ni možno določiti varne meje izpostavljenosti, kot so genotoksični karcinogeni, se ADI ne določi, vendar takšne snovi niso sprejemljive kot aditivi. Za oceno tveganja v primeru prisotnosti neizogibnih genotoksičnih onesnažil ali ostankov v aditivih se za te uporabi tako imenovana »Meja toksikološke zaskrbljenosti« (ang. Threshold of Toxicological Concern – TTC). V teh primerih se predpostavlja, da bo izpostavljenost uporabnikov pri največji uporabi pod vrednostjo TTC, ki je za genotoksične snovi 0,15 µg/osebo/dan (EFSA, 2012b).



Slika 1: Shematski prikaz stopenjskega testiranja toksikoloških lastnosti aditivov za živila (EFSA, 2012b).

3 PRIMERI OCEN ADITIVOV ZA ŽIVILA

V EU so aditivi za živila uvrščeni v 26 funkcionalnih skupin: sladila, barvila, konzervansi, antioksidanti, nosilci, kisline, sredstva za uravnavanje kislosti, sredstva proti sprijemanju, sredstva proti penjenju, sredstva za povečanje prostornine, emulgatorji, emulgirne snovi, utrjevalci, ojačevalci arome, sredstva za penjenje, želirna sredstva, sredstva za glaziranje, sredstva za ohranjanje vlage, modoficirani škrobi, plini za pakiranje, potisni plini, sredstva za vzhajanje, veziva, stabilizatorji, sredstva za zgostitev in sredstva za obdelavo moke (Uredba (ES) št. 1333/2008). Glede na izvor in proizvodnjo lahko aditive za živila uvrstimo v 4 velike skupine: naravni aditivi (pridobljeni so iz rastlin ali živali), naravnim podobni aditivi (pridobljeni sintetično tako, da so njihove lastnosti podobne naravnim), modoficirani naravni aditivi (pridobljeni s kemijsko modifikacijo naravnih aditivov), in sintetični aditivi. Aditivi za živila obsegajo preko 2500 spojin in zato so v nadaljevanju podani le izbrani primeri.

3.1 KONZERVANSI

Konzervanse (E200-E297) dodajamo živilom zato, da preprečimo ali zmanjšamo rast mikroorganizmov v živilih. Pri tem gre za mikroorganizme, ki lahko povzročajo kvar živil in tudi za patogene mikroorganizme. S konzervansi tudi omejimo potencialno možnost kontaminacije živil z mikroorganizmi. Nekateri konzervansi se uporabljajo po načelu *quantum satis* (npr. očetna kislina, kalcijev acetat, kalijev acetat, mlečna kislina, ogljikov dioksid, jabolčna kislina), medtem ko imajo drugi omejeno uporabo, ki je določena kot vsebnost MPL za posamezne kategorije živil (npr. benzojska kislina in benzoati, sorbinska kislina in sorbati, nitriti, nitrati, parabeni). Aditivi, ki sodijo med konzervanse, so s strani EFSA vključeni v program ponovnega ocenjevanja (Uredba 257, 2010) in aktualni podatki so dostopni na spletni povezavi:

https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/additives/re-evaluation_en

3.1.1 Benzojska kislina in benzoati

Benzojska kislina (E210) ter natrijev (E211), kalijev (E212) in kalcijev benzoat (E213) so bili s strani SCF in JECFA (ang. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) že pred 2009 odobreni živilski aditivi, vendar je bila opravljena njihova ponovna evalvacija in glavni zaključki obširne ocene varnosti so (EFSA, 2016a):

- Ker se v proizvodnji benzojske kisline in njenih soli kot katalizatorji uporabljajo svinec, živo srebro in arzen, je potrebno njihovo vsebnost v teh konzervansih spremljati in le-ta ne sme preseči zgornje mejne vrednosti (2 mg/kg za Pb, 1 mg/kg za Hg, 3 mg/kg za As).
- Akutne in sub-kronične toksikološke študije benzojske kisline in benzoatov kažejo, da je njihova toksičnost nizka, brez toksičnega odziva v posameznem tarčnem organu.
- Benzojska kislina in benzoati nimajo genotoksičnega in rakotvornega učinka.
- Vrednost NOAEL za podgane je 500 mg/kg telesne mase. Ob upoštevanju varnostnih faktorjev je določena vrednost ADI (5 mg/kg telesne mase na dan).
- Izpostavljenost potrošnikov benzojski kislini in benzoatom je bila določena na več načinov (preglednica2):
 - Z upoštevanjem najvišjih dovoljenih vsebnosti aditiva v živilih (MPL): rezultati so pokazali, da bi bila izpostavljenost večja kot ADI za vse starostne skupine potrošnikov, če bi se v živila dodajale najvišje dovoljene vsebnosti (95 percentil), medtem ko bi bila ADI presežena pri malčkih in otrocih tudi pri povprečni vrednosti MPL.
 - Z upoštevanjem podatkov o uporabljenih vsebnostih aditivov pridobljeni s strani EU-članic (preko 39.000 analitskih rezultatov) je bila izpostavljenost določena na dva načina:
 - V t. i. »brand-loyal consumer scenario« je bila izpostavljenost sorbatom večja kot je ADI v primerih visokega nivoja aditivov pri malčkih, otrocih in starostnikih.
 - V t. i. »non-brand-loyal consumer scenario« izpostavljenost v nobenem primeru ni bila večja kot je ADI.
 - Z upoštevanjem analitskih podatkov o vsebnosti benzoatov kot aditivov v živilih in podatkov o prenosu benzojske kisline in benzoatov iz drugih aditivov, ki so se dodajali v živila:
 - V t. i. »brand-loyal consumer scenario« je bila izpostavljenost sorbatom večja kot je ADI v primerih visokega nivoja aditivov pri vseh starostnih skupinah, medtem ko je bila pri povprečnem nivoju sorbatov večja kot je ADI pri malčkih, otrocih in starostnikih.
 - V t. i. »non-brand-loyal consumer scenario« je izpostavljenost presegla ADI pri malčkih in otrocih.

Ko je bila izpostavljenost benzojski kislini in benzoatom določena glede na rezultate analiz živil, v katere se ti aditivi dodajajo in glede na rezultate analiz drugih aditivov, ki se lahko dodajajo v živila, in lahko vsebujejo tudi benzojsko kislino ali benzoate, so pri t.i. »Brand-loyal scenario« k izpostavljenosti vseh starostnih skupin največ prispevali nepredelani sadni in zelenjavni izdelki (FCS (ang. Food Categorisation System) kategorija 04.1) (EFSA, 2015b), medtem ko so pri »Non-brand-loyal scenario« največ doprinesli za dojenčke sadni in zelenjavni izdelki, za malčke nepredelani sadni in zelenjavni izdelki (FCS-kategorija 04.1), za otroke in mladostnike aromatizirane pijače ter nepredelani sadni in zelenjavni izdelki (FCS-kategorija 04.1), medtem ko za odrasle in starostnike nepredelani sadni in zelenjavni izdelki (FCS- kategorija 04.1), kava, čaj, ter zeliščni in sadni napitki.

Preglednica 2: Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) potrošnikov različnih starostnih skupin benzojski kislini in benzoatom (E210-213) (prirejeno po EFSA, 2016a)

Vsebnost aditiva v živilih	Dojenčki (1-4 mesece)	Malčki (5-35 mesecev)	Otroci (3-9 let)	Mladostniki (11-17 let)	Odrasli (18-64 let)	Starostniki (≥ 65let)
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) najvišji dovoljeni vsebnosti aditiva (ang. regulatory maximum level exposure assessment scenario)						
Povprečen nivo	0,2-1,5	0,8-8,4	0,8-6,5	0,5-3,6	0,6-3,4	0,4-2,8
Visok nivo	0,8-5,5	3,3-13,8	3,6-14,7	1,8-8,7	1,7-7,8	1,2-7,0
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario)						
»Brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	0,07-0,8	0,6-3,2	0,7-2,6	0,4-1,9	0,4-2,0	0,2-1,6
Visok nivo	0,4-3,2	1,9-7,0	2,7-7,1	1,5-5,3	1,2-5,1	0,6-4,3
»Non-brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	0,02-0,3	0,1-1,6	0,3-1,5	0,2-1,1	0,1-1,6	0,04-0,4
Visok nivo	0,05-1,7	0,2-4,7	1,1-3,8	0,7-2,6	0,5-1,9	0,2-1,0
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario) in vsebnostim aditiva, ki je lahko prisoten v drugih aditivih v živilih						
»Brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	5,4-7,2	7,3-10,6	4,6-9,8	2,5-5,2	2,9-4,6	3,0-4,7
Visok nivo	10,3-15,9	12,3-19,6	8,0-17,6	4,9-11,0	5,3-8,5	5,4-7,8
»Non-brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	1,3-2,1	2,2-3,5	1,5-3,1	0,8-1,9	1,0-1,6	0,8-1,5
Visok nivo	2,3-4,1	3,4-6,9	3,1-5,6	1,7-3,7	1,7-3,0	1,3-2,6

poudarjeno: izpostavljenost > ADI (5 mg/kg/telesne mase na dan)

3.1.2 Sorbinska kislina in sorbati

Sorbinska kislina (E200) ter kalijev (E202) in kalcijev sorbat (E203) so aditivi za živila, ki so bili s strani SCF in JECFA že pred 2009 odobreni živilski aditivi, vendar je bila opravljena njihova ponovna evalvacija (EFSA, 2015a). Vrednosti MPL v različnih živilih so od 20 mg/kg do 6000 mg/kg, uporablja se tudi kot *quantum satis* (QS) (npr. površinsko tretiranje zorjenih sirov FCS-kategorija 01.7.2). Poleg tega je dovoljena uporaba sorbinske kisline in sorbatov skupaj z benzojsko kislino in benzoati (E210-213) ter hidroksibenzoati (PHB: E214, E215, E218, E219) (npr. površinsko tretiranje toplotno neobdelanih sušenih mesnih izdelkov FCS-kategorija 08.3.1). Sorbinska kislina in sorbati so tudi dovoljeni aditivi v drugih aditivih (npr. barvila) in encimskih preparatih. Obširna ponovna ocena varnosti sorbinske kisline ter kalijevega in kalcijevega sorbata je pokazala (EFSA, 2015a):

- Kronične toksikološke študije so pokazale, da ni bilo zaznani škodljivih učinkov sorbinske kisline vse do NOAEL 1400 mg/kg telesne mase na dan pri miših, in 630 mg/kg na dan ter 850 mg/kg na dan pri podganah moškega oz. ženskega spola; pri podganah pri teh vsebnostih tudi niso zaznali rakotvornih sprememb.
- Akutne in sub-kronične toksikološke študije sorbatov na miših in podganah v vsebnostih do 9200 mg/kg telesne mase nimajo nobenih škodljivih učinkov.
- Sorbinska kislina in kalijev sorbat nimajo genotoksičnega učinka, medtem ko so za vrednotenje kalcijevega sorbata potrebne dodatne študije.
- Študije reproduktivne toksičnosti na podganah so pokazale, da je NOAEL za plodove 300 mg/kg telesne mase na dan, medtem ko za samice 1000 mg/kg telesne mase na dan.
- Študije razvojne toksičnosti (teratogenost) na zajcih so pokazale, da je NOAEL za samice in plodove 300 mg/kg telesne mase na dan. Reprodukcijska toksičnost (plodnost, teratogenost) je bila določena tudi na podganah, vendar je bilo opravljenih premalo študij in zato kalcijev sorbat ni bil ponovno ovrednoten. Za sorbinsko kislino in kalijev sorbat je bila določena začasna vrednost ADI 3 mg/kg telesne mase na dan.

- Študije interakcij sorbinske kisline in nitratov ter sorbinske kisline in nitratov v prisotnosti železovih soli so v razmerah *in vitro*, ki so bile izvedene v vodnih raztopinah pokazale, da imajo produkti lahko mutagen učinek. Predvideva se, da je obseg teh interakcij v živilih majhen.
- Študije interakcij sorbinske kisline z različnimi amini (metil amin, etil amin, propil amin, benzil amin) so pokazale, da v razmerah *in vitro* nastali produkti nimajo mutagenega učinka.
- Izpostavljenost potrošnikov sorbinski kislini in sorbatom je bila določena na več načinov (preglednica 3):
 - Z upoštevanjem najvišje dovoljene vsebnosti aditiva v živilih (MPL) je bila izpostavljenost večja kot ADI za vse starostne skupine potrošnikov.
 - Z upoštevanjem analitskih rezultatov pridobljeni s strani EU-članic je bila izpostavljenost določena na dva načina:
 - V t. i. »brand-loyal consumer scenario« je bila izpostavljenost sorbatom večja kot je ADI pri vseh starostnih skupinah.
 - V t. i. »non-brand-loyal consumer scenario« je bila izpostavljenost sorbatom večja kot ADI pri vseh starostnih skupinah.
 - Z upoštevanjem analitskih podatkov o vsebnosti benzoatov kot aditivov v živilih in podatkov o prenosu sorbinske kisline in sorbatov iz drugih aditivov, ki so se dodajali v živila.
 - V t. i. »brand-loyal consumer scenario« je bila izpostavljenost sorbatom večja kot je ADI v primerih visokega nivoja aditivov pri vseh starostnih skupinah, medtem ko je bila pri povprečnem nivoju sorbatov za vse starostne skupine manjša kot je ADI.
 - V t. i. »non-brand-loyal consumer scenario« izpostavljenost sorbinski kislini in sorbatom ni presegla ADI v nobeni starostni skupini.

Preglednica 3: Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) potrošnikov različnih starostnih skupin sorbinski kislini (E200) in kalijevega ter kalcijevega sorbatu (E202, E203) (prirejeno po EFSA, 2015a)

Vsebnost aditiva v živilih	Malčki (12-35 mesecev)	Otroci (3-9 let)	Mladostniki (11-17 let)	Odrasli (18-64 let)	Starostniki (≥ 65let)
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) najvišji dovoljeni vsebnosti aditiva (ang. regulatory maximum level exposure assessment scenario)					
Povprečen nivo	7,7-23,7*	10,1-19,9	4,7-11,5	5,0-8,9	5,0-7,1
Visok nivo	20,7-33,9	20,0-38,7	10,1-25,1	9,9-16,3	9,6-12,8
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario)					
»Brand-loyal scenario«					
Povprečen nivo	6,6-13,7	4,4-15,3	2,8-8,4	3,6-6,0	3,9-4,6
Visok nivo	16,0-27,7	11,0-30,8	6,3-19,0	7,2-11,1	7,8-9,2
»Non-brand-loyal scenario«					
Povprečen nivo	5,2-10,6	2,5-11,3	2,0-6,3	2,6-4,5	2,8-3,4
Visok nivo	11,7-20,4	6,1-23,1	4,7-12,4	5,4-8,4	5,7-6,6
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario) in vsebnostim aditiva, ki je lahko prisoten v drugih aditivih v živilih					
»Brand-loyal scenario«					
Povprečen nivo	5,6-11,9	5,4-13,0	2,5-6,8	3,2-4,9	3,7-4,6
Visok nivo	15,2-23,4	11,3-26,5	5,6-14,8	5,93-10,0	7,1-8,2
»Non-brand-loyal scenario«					
Povprečen nivo	0,7-1,8	0,9-1,7	0,4-1,1	0,3-0,8	0,3-0,6
Visok nivo	2,2-3,1	1,8-3,7	0,9-2,4	0,7-1,7	0,6-1,2

poudarjeno: izpostavljenost > začasne ADI (3 mg/kg/telesne mase na dan)

Pri določitvi izpostavljenosti sorbinski kislini in kalijevega ter kalcijevega sorbatu so največ doprinesla živila iz treh kategorij in sicer kruh in izdelki (FCS-kategorija 07.1),

fini pekovski izdelki (FCS-kategorija 07.2) in aromatizirane pijače (FCS-kategorija 14.1.4) (EFSA, 2015b). Pri teh ocenah je EFSA upoštevala 1625 oz. 2597 analitskih rezultatov za kruh in izdelke ter za fine pekovske izdelke pridobljenih s strani članic EU. Povprečna analitsko določena vsebnost je bila za kruh in izdelke 92,2 mg/kg in za fine pekovske izdelke 205 mg/kg, kar je veliko manj od vrednosti MPL (2000 mg/kg), medtem ko so bili podatki o uporabi teh konzervansov višji (1425 mg/kg, 1068 mg/kg), vendar še vedno nižji od MPL. Velike razlike med MPL in analitskimi rezultati so posledica i) ti aditivi se dejansko ne dodajajo vsem dovoljenim kategorijam živil v največji dovoljeni vsebnosti in ii) pri analitskih rezultatih so dejansko upoštevane izgube med proizvodnim procesom in so zato vsebnosti nižje. Izpostavljenost sorbinski kislini in sorbatom preko kruha in izdelkov ter finih pekovskih izdelkov je verjetno precenjena, prav tako pa je tudi glede na pomembnost teh dveh kategorij živil v prehrani, celotna izpostavljenost tem aditivom precenjena.

3.2 BARVILA

Barvila za živila (E 100-180) so snovi naravnega izvora ali sintetične snovi. Živilom se dodajajo i) da ohranijo barvo, ki bi jo izgubila zaradi izpostavljenosti svetlobi, vlagi ali sprememb temperature, ii) da se poudari naravna obarvanost živila ali iii) da se obarva živila, ki bi bila sicer brezbarvna ali pa drugačne barve. Barvila najdemo v številnih živilskih izdelkih kot so slaščičarski izdelki (okraski, oblivi), bomboni, brezalkoholne pijače, sladoled, prehranska dopolnila, siri, margarine, prigrizki (npr. čips) pa tudi v ribjih in morskih izdelkih. V okviru zahteve EC je EFSA ponovno ocenila varnost 41 barvil za živila, katerih uporaba je bila dovoljena pred letom 2009. Pri tem je upoštevala vse razpoložljive znanstvene študije ter podatke o toksičnosti in izpostavljenosti ljudi. Ponovna ocena je vključevala tudi določitev vrednosti ADI v primerih, ko je bilo na voljo dovolj podatkov. Rezultat ponovne ocene barvil je bil, da je EC znižala MDL treh barvil (E104 (kinolin rumeno), E110 (sončno rumeno), E124 (ponceau 4R)) in prepovedala uporabo barvila Red 2G (E128).

3.2.1 Titanijev dioksid

Titanijev dioksid (E171) se v živilski industriji uporablja kot bel pigment. Surovine za proizvodnjo TiO_2 so limenit (železov titanijev oksid), naravni rutilni TiO_2 ali titanijeva žlindra. Iz surovine ekstrahirajo TiO_2 pigment, ki ima lahko anatazno ali rutilno kristalinično zgradbo, z sufatnim ali kloridnim postopkom. S strani SCF in JECFA je bil TiO_2 odobren kot živilski aditiv pred letom 2009. Nobena od obeh agencij ni postavila ADI in se uporablja QS. V EU je uporaba E171 dovoljena v 51 živilih. Ponovna ocena varnosti TiO_2 ocena s strani EFSA je bila zaključena leta 2016. Glavni poudarki opredelitve nevarnosti TiO_2 so (EFSA, 2016b):

- TiO_2 kot aditiv živilom - E171 se v skladu z definicijo EU nanomaterialov (»naraven, nenameren ali izdelan material, ki vsebuje nevezane delce, agregate ali aglomerate, pri čemer ima več kot 50 % delcev eno ali več dimenzij velikostnega reda med 1-100 nm) ne smatra kot nanomaterial. E171 večinoma vsebuje delce TiO_2 , ki so mikronske velikosti s frakcijo nanodelcev TiO_2 (< 100 nm), ki predstavlja manj kot 3,2 % mase.
- Absorpcija TiO_2 delcev (mikro- in nanovelikosti) v prebavnem traktu je po oralnem dajanju minimalna; ocenjena na največ 0,02-0,1 % danega odmerka.
- Med mikro-in nano TiO_2 delci po oralnem dajanju ni bilo opaženih razlik v absorpciji, porazdelitvi in izločanju.

- Na osnovi razpoložljivih podatkov o genotoksičnosti ter podatkov o absorpciji, distribuciji in izločanju mikro in nano TiO_2 delcev po oralnem dajanju, je Odbor za aditive in vire hranil dodane hrani (Ang: Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food - ANS) zaključil, da ni verjetno, da TiO_2 predstavlja nevarnost zaradi genotoksičnosti *in vivo*.
- Na osnovi dobljenih rezultatov dolgodobnih toksikoloških študij ni pričakovati škodljivih učinkov zaradi morebitne akumulacije absorbiranih delcev, ker niti pri najvišjih odmerkih ni bilo opaženih toksičnih učinkov
- Nekatere študije, ki so bile izvedene z nano TiO_2 , ki pa ali ni bil ustrezen za uporabo kot aditiv živilom, ali pa ni bil ustrezno okarakteriziran (ne E171), so pokazale možne škodljive učinke na razmnoževanje. Odbor ANS ni sprejel končnega zaključka o možni reproduktivni toksičnosti, ker za E171 ni na razpolago podatkov 90-dnevne študije, kot se zahteva pri registraciji novih aditivov (EFSA, 2012b) in tudi ne več generacijske ali pa podaljšane eno generacijske študije reproduktivne toksičnosti.
- Na osnovi podatkov študije karcinogenosti TiO_2 pri podganah in miših je ANS izbral NOAEL, ki je 2.250 mg TiO_2 /kg telesne mase za podganje samce pri najvišjem testiranem odmerku.

Negotovost pri toksikoloških podatkih za E171 predstavlja pomanjkanje študij reproduktivne toksičnosti. Zaradi tega ANS ni postavil ADI, ampak se je odločil oceniti tveganje na osnovi izračuna meje varnosti (MOS) (EFSA, 2012a).

Prehransko izpostavljenost TiO_2 (E171), zaradi uporabe kot aditiva živilom, so izračunali na osnovi: i) podatkov o maksimalnih količinah v živilih in ii) podatkov poročil o dejansko uporabljenih ali analitsko določenih količinah, ki so jih posredovale industrija in članice EU (Preglednica 4). Ti podatki so pokazali, da v primeru TiO_2 ni opažena nobena specifična kategorija živil pri kateri bi njegove koncentracije izstopale, zato je ANS smatral, da je za karakterizacijo tveganja in ocene izpostavljenosti po metodi »non-brand-loyal consumer scenario«, primeren in realen scenarij saj predpostavlja, da bo populacija dolgodobno izpostavljena aditivu pri povprečni uporabi oz. analitsko določenih količinah v predelani hrani.

Na osnovi razpoložljivih toksikoloških podatkov je ANS ugotovil, da je najnižja vrednost MOS, izračunana iz razmerja NOAEL 2.250 mg TiO_2 /kg telesne mase na dan in podatkov o povprečni uporabi/analitsko določenih količinah TiO_2 (E171) večja od 100 in ocenil, da uporaba TiO_2 (E171) ni zaskrbljujoča.

Odbor je sprejel tudi zaključek da bo možno postaviti ADI, ko bodo na voljo verodostojni podatki reproduktivne toksičnosti E171. Priporočil je izvedbo dodatnih testiranja; študijo 90-dnevne izpostavljenosti ali večgeneracijsko študijo ali podaljšano eno generacijsko študijo v skladu z navodili OECD. Pri tem mora biti testirani TiO_2 (E171) skladen z EU specifikacijo in mora biti tudi karakteriziran glede porazdeljenosti velikosti delcev. Nadalje je odbor priporočil, da se v EU specifikacijo TiO_2 (E171) vključi karakterizacija porazdelitve velikosti delcev, kot tudi delež delcev nano velikosti. Meritve delcev morajo biti izvedene v skladu z EFSA navodili (EFSA, 2011). V EU specifikaciji je treba tudi revidirati maksimalne meje nečistot - toksičnih kovin (arzen, svinec, živo srebro in kadmij), da aditiv ne bi bil vir izpostavljenosti tem elementom v hrani

Preglednica 4: Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) potrošnikov različnih starostnih skupin TiO₂ (E171) uporabljenega kot aditiv živilom (prirejeno po EFSA, 2016b)

Vsebnost aditiva v živilih	Dojenčki (1-4 mesece)	Malčki (5-35 mesecev)	Otroci (3-9 let)	Mladostniki (11-17 let)	Odrasli (18-64 let)	Starostniki (≥ 65let)
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) najvišji dovoljeni vsebnosti aditiva (ang. regulatory maximum level exposure assessment scenario)						
Povprečen nivo	0,4-1,9	1,2-9,2	1,8-10,4	0,8-6,7	0,6-6,8	0,4-4,5
Visok nivo	1,4-9,6	4,0-19,3	4,9-32,4	3,1-23,5	2,2-15,0	1,2-10,7
Izpostavljenost (mg/kg telesne mase na dan) dejanskim vsebnostim aditiva v živilih (ang. refined exposure assessment scenario)						
»Brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	0,4-1,8	1,1-7,6	1,5-8,8	0,7-5,9	0,5-5,7	0,4-3,9
Visok nivo	1,2-9,2	3,6-14,7	4,1-30,5	2,5-21,2	1,9-13,6	1,1-9,2
»Non-brand-loyal scenario«						
Povprečen nivo	0,2-0,8	0,6-4,6	0,9-5,5	0,4-4,1	0,3-4,0	0,2-2,8
Visok nivo	0,7-3,9	2,0-6,8	2,4-14,8	1,3-10,8	1,1-9,7	0,5-7,0

3.3 SLADILA

Sladila so aditivi v živilih, ki se uporabljajo kot nekaloričen ali nizko kaloričen nadomestek namiznega sladkorja za sladkanje živil in kot namizna sladila. Uporaba sladil naj bi pripomogla k zmanjševanju uživanja sladkorja. Nedavno so strokovnjaki EFSA ocenili utemeljenost trditev o povezavah uporabe sladil in koristnih zdravstvenih učinkih. Zaključili so, da rezultati znanstvenih raziskav potrjujejo trditve, da zaužitje sladil in nadomestkov sladkorja namesto sladkorja neposredno po zaužitju privede do manjšega zvišanja ravni krvnega sladkorja in ohranja mineralizacijo zob s tem, da preprečuje njihovo demineralizacijo. Vendar pa strokovnjaki EFSA niso potrdili trditve, da zamenjava sladkorja s sladili vzdržuje normalne ravni krvnega sladkorja ali vpliva na vzdrževanje normalne telesne teže.

Nekateri sladila delijo v dve skupini; i) sladila, ki imajo podobno sladilno moč kot saharoza (namizni sladkor) in ii) intenzivna sladila. V prvo skupino spadajo manitol (E421), sorbitol (E420), eritritol (E968), izomalt (E953), ksilitol (E967), laktitol (E966), maltitol (E965), v drugo pa acesulfam K (E950), advantam (E969), aspartam (E951), ciklamati (E952), neohesperidin DC (E959), neotam (E961), saharini (E954), steviol glikozidi (E960), sukraloza (E955), taumatol (E957).

3.3.1 Steviol glikozidi

Stevia rebaudiana iz družine Chrysanthemum, je divja rastlina oz. majhen grm, ki raste v delih Paragvaja in Brazilije. Znano je, da so domorodci to rastlino, ki so jo imenovali Ca-he-he (»sladka zel«), uporabljali za sladkanje čajev in pijač že v 16. stoletju. V 19. stoletju se je stevia kot sladilo začela uveljavljati tudi drugod po svetu, najbolj na Japonskem, v celotni Južni Ameriki, Braziliji, Južni Koreji, Kitajski in v predelu pacifiškega pasu, danes pa čedalje bolj tudi v Evropi, Avstraliji in Severni Ameriki. Rastlino gojijo po vsem svetu, največja proizvajalka pa je Kitajska.

Listi stevie vsebujejo osem glikozidov, ki so 200-300 krat bolj sladki od sladkorja. Glikozidi so stevozid, ki prevladuje, ter rebaudiozid A, C, D, E, in F, steviolbiozid, in dulkozid A.

Uporaba stevie oziroma steviol glikozidov kot nadomestka sladkorja in sladil za živila je v različnih državah različno urejena. V EU je bila uporaba steviol glikozidov kot sladila za živila (E 960) odobrena leta 2011 (Commission Regulation (EU) No 1131/2011).

Varnost uporabe steviol glikozidov kot sladila je ocenjeval SCF v letih 1985, 1989 in 1999 in zaključil, da »na osnovi dostopnih podatkov snov ni sprejemljiva kot sladilo«, za to je EC ni odobrila. V letu 1988 je bila vložena vloga za dovoljenje prodaje rastline in listov *Stevia rebaudiana* Bertoni kot novega živila v skladu z direktivo o novih živilih (Regulation (EC) No 258/97). SCF je ocenil, da varnosti ni možno oceniti, ker so podatki o specifikaciji komercialnega proizvoda nezadostni in ni na voljo varnostnih študij. Zaradi tega EC ni odobrila trženja rastline in suhih listov *Stevia rebaudiana* Bertoni kot sestavine hrane ali krme. Varnost uporabe je ocenjeval tudi Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA) v letih 2000, 2005, 2006, 2007 in 2009, ki je določil ADI za steviol glikozide 4 mg/kg telesne mase na dan (izraženo kot steviol ekvivalenti).

V letu 2007 sta dva prosilca vložila vlogo za odobritev uporabe steviol glikozidov kot sladila za živila kot so pijače, deserti, jogurti, torte, biskviti, bomboni ter za klobase, omake, namaze, vloženo sadje itd. Leta 2008 pa je tretji prosilec vložil vlogo za odobritev uporabe kot sladila na enak način, kot je odobren Aspartam. EFSA Odbor ANS je na osnovi predloženih dosjejev, ki so vsebovali toksikološke podatke in podatke o namenu uporabe, izdelal znanstveno oceno varnosti uporabe steviol glikozidov (EFSA, 2010), ki jo v nadaljevanju povzemava.

Ocena se nanaša na steviol glikozide, ki so kemijsko definirana mešanice z najmanj 98% stevozida in/ali rebaudioside A. V končnih zmesih so prisotne tudi manjše količine rebaudiosidov B, C, D, E in F, steviolbiozida, rubusozida in dulcozida A.

- Študije presnove so pokazale, da se intaktni steviol glikozidi tako pri živalih, kot pri ljudeh po oralnem dajanju slabo absorbirajo, vendar pa jih črevesna flora hidrolizira v steviol, ki se v večji meri absorbira, ostanek pa izloči z blatom. V jetrih steviol konjugira z glukuronsko kislino, nastali steviol glukuronid pa se izloči prek urina pri ljudeh oz. blata pri podganah. Akumulacije derivatov stevia glikozidov niso opazili.
- Pri nekaterih subkroničnih študijah, študijah karcinogenosti in pri 2-generacijski študiji reprodukcije so opazili zmanjšano pridobivanje teže tretiranih živali v s primerjavi kontrolnimi. Vendar je bilo to povezano z zmanjšanim uživanjem krme, kar je povezano z slabšim okusom in nižjo prehransko vrednostjo krme z steviol glikozidi. Zato spremembe teže niso upoštevali kot primeren pokazatelj za postavitev parametra NOAEL.
- Rezultati toksikoloških študij so pokazali, da steviol glikozidi niso genotoksični, karcinogeni in ne izkazujejo reproduktivne ali razvojne toksičnosti. Steviol in njegovi oksidativni produkti so sicer genotoksični *in vitro*, ne pa tudi *in vivo* pri odmerkih do 8000 mg/kg telesne mase. Poleg tega so toksikokinetični podatki pokazali, da prostega steviola v krvnem obtoku ljudi ni, kar izključuje morebitno nevarnost zaradi genotoksičnosti. Vrednost NOAEL na osnovi 2-letne študije karcinogenosti na podganah je bila 2,5 % stevozida (95,6 % čistosti) v krmi kar odgovarja 967 mg stevozida/kg telesne mase na dan (kar je cca 388 mg steviol ekvivalentov/kg telesne mase na dan).
- Študije na prostovoljcih so pokazale, da niti enkratno dajanje 1000 mg steviol glikozidov/osebo na dan (97 % rebaudioside A; odgovarja cca 330 mg steviol ekvivalentov/dan) niti ponovljeno dajanje 1000 mg steviol glikozidov/osebo na dan 16 tednov ni vplivalo na homeostazo glukoze ali krvni tlak pri posameznikih z normalno glukozno toleranco ali pri diabetikih tipa 2. Pri posameznikih z normalnim ali nizkim sistoličnim tlakom oralno uživanje 1000 mg rebaudioside

A/osebo/dan 4 tedne ni vplivalo na parametre krvnega tlaka. Ta dnevni odmerek odgovarja 16,6 mg rebaudioside A oz. cca 5,5 mg steviol ekvivalentov/kg telesne mase za osebo, ki tehta 60 kg na dan.

- Posamezni podatki *in vitro* in *in vivo* študij nakazujejo na možno imunostimulativno in vnetno delovanje steviola. Vendar, po mnenju ANS, na osnovi razpoložljivih rezultatov raziskav stevia glikozidov na živalih in celičnih linijah ni možno oceniti tveganja. Je pa potrebno ta opažanja nadalje raziskati in, če se opažanja potrdijo lahko to pomeni nevarnost za nekatere skupine ljudi, predvsem za posameznike, ki trpijo zaradi avtoimunih bolezni ali črevesnih vnetij.
- ANS je za steviol glikozide postavil ADI 4 mg/kg telesne mase na dan pri čemer je uporabil NOAEL 2-letne študije karcinogenosti, ki je 2,5 % stevozida v živilu, kar je 967 stevozida/kg telesne mase na dan (cca 388 mg steviol ekvivalentov/kg telesne mase na dan) ter varnostni faktor 100.

Za oceno izpostavljenosti stevia glikozidom je ANS upošteval predlagane maksimalne koncentracije kot so jih predlagali prosilci. Izvedel je grobo oceno izpostavljenosti (Budget method), kjer se predpostavlja, da 25 % trdnih živil in vse pijače za odrasle in otroke vsebujejo sladilo ter podrobno oceno, kjer se upošteva podatke o uživanju posameznih vrst živil in pijač za otroke in odrasle. Predpostavili so, da odrasel človek, ki tehta 60 kg dnevno zaužije 1,5 l pijač in 375 g trdnih živil; 3-letni otrok, ki tehta 15 kg pa dnevno zaužije 1,5 l pijač in 94 g trdnih živil, ki vsebujejo stevia glikozide. Teoretično bi bila po tej oceni maksimalna izpostavljenost 37,1 mg/kg telesne mase na dan za odrasle in otroke.

Za podrobnejšo oceno izpostavljenosti so kot reprezentativne podatke za Evropsko populacijo odraslih upoštevali podatke za Veliko Britanijo, ki ima največjo porabo brezalkoholnih pijač v EU in ker so imeli podrobnejše podatke o uživanju različnih skupin živil, kot je bilo v tistem času na voljo za ostale članice EU. Za otroke pa so upoštevali podatke študije, ki je vključevala otroke stare med 1 in 14 let iz 11 Evropskih držav. Po tej oceni je povprečen nivo izpostavljenosti otrok (1-14 let) steviol glikozidom od 0,7 do 7,2 mg/kg telesne mase na dan, visok nivo izpostavljenosti pa med 3,3 in 17,2 mg/kg telesne mase na dan. Največji delež (>10 % v vseh državah) k skupni predvideni izpostavljenosti steviol glikozidom predstavljajo brezalkoholne pijače (11 do 58 %) in deserti vključno s slajenimi mlečnimi izdelki (14 do 71 %). Povprečen nivo izpostavljenosti odrasle populacije velike Britanije je 2,2 do 2,7 mg/kg telesne mase na dan, visok pa 8,0 do 9,7 mg/kg telesne mase na dan. Največji delež skupni izpostavljenosti doprinesejo brezalkoholne pijače (37 %) ter pivo cider in hruškovec (33 %).

Iz navedenih ocen izpostavljenosti odraslih in otrok steviol glikozidom je razvidno, da bo pri maksimalni predlagani uporabi ADI presežen.

4 ZAKLJUČEK

Aditivi so v mnogih živilskih proizvodih nujni dodatki uporabljeni v proizvodnji kakovostnih in varnih živil. Ne glede na to, ali gre za naravne ali sintetično pridobljene snovi, mora biti njihova uporaba tehnološko utemeljena in varna. Za ocenjevanje tveganj je zato predviden obsežen postopek, ki poleg fizikalno-kemijskih lastnosti in namena uporabe, vključuje tudi oceno izpostavljenosti in biološke ter toksikološke podatke. Za vsak aditiv se zato oceni varnost pred njegovo odobritvijo za uporabo v živilu(ih) ali tudi kasneje, če novejšje raziskave pokažejo, da gre za povečano tveganje.

5 VIRI

- Blaauboer B. J., Boobis A. R., Bradford B., Cockburn A., Constable A., Daneshian M., Edwards G., Garthoff J. A., Jeffery B., Krul C., Schuermans J. 2016. Considering new methodologies in strategies for safety assessment of foods and food ingredients. *Food and Chemical Toxicology* 91:19-35
- Carocho M., Barreiro M. F., Morales P., Ferreira I.C.F.R. 2014. Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13: 377-399
- Carocho M., Morales P., Ferreira I.C.F.R. 2015. Natural food additives: *Quo vadis?* Trends in Food Science & Technology 45: 284-295
- Codex Alimentarius. <http://www.codexalimentarius.org/standards/gsfa/>. 10/04/2017
- Commission Regulation (EU) No 1131/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council with regard to steviol glycosides
- EFSA. 2010. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS): Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 2010;8(4):1537
- EFSA. 2011. Scientific Committee; scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. *EFSA Journal* 9(9): 2379
- EFSA. 2012a. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Guidance for submission for food additive evaluations. *EFSA Journal* 10(7):2760.1-60
- EFSA. 2012b. Exploring options for providing preliminary advice about possible human health risks based on the concept of threshold of toxicological concern. (TTC) *EFSA Journal* 10(7): 2750
- EFSA. 2015a. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources (ANS). Scientific Opinion on the re-evaluation of sorbic acid (E 200), potassium sorbate (E 202) and calcium sorbate (E 203) as food additives. *EFSA Journal*, 13(6): 4144, 1-91
- EFSA. 2015b. The food classification and description system FoodEx2 (revision 2). EFSA Supporting publication 2015:EN-804, 1-90
- EFSA. 2016a. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources (ANS). Scientific Opinion on the re-evaluation of benzoic acid (E 210), sodium benzoate (E 211), potassium benzoate (E 212) and calcium benzoate (E 213) as food additives. *EFSA Journal*, 14(3): 4433, 1-110
- EFSA. 2016b. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources (ANS). Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(9): 4545
- OECD (2010), Test No. 417: Toxicokinetics, OECD Publishing, Paris
- OECD (1997), Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test, OECD Publishing, Paris.
- OECD (2010), Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Publishing, Paris
- OECD (2014), Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, OECD Publishing, Paris.
- OECD (2014), Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Publishing, Paris
- OECD (2011), Test No. 488: Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays, OECD Publishing, Paris
- OECD (1998), Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Publishing, Paris
- OECD (2008), Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Publishing, Paris
- OECD (2009), Test No. 452: Chronic Toxicity Studies, OECD Publishing, Paris
- OECD (2009), Test No. 451: Carcinogenicity Studies, OECD Publishing, Paris
- OECD (2009), Test No. 453: Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies, OECD Publishing, Paris
- OECD (2001), Test No. 414: Prenatal Development Toxicity Study, OECD Publishing, Paris
- OECD (2012), Test No. 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study, OECD Publishing, Paris
- Olusegun E. T., Adegoke O. A. 2015. Toxicity of food colours and additives: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 9(36): 900-914
- Uredba Komisije (EU) št. 257/2010 z dne 25. marca 2010 o določitvi programa za ponovno oceno odobrenih aditivov za živila v skladu z Uredbo (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o aditivih za živila. Uradni list Evropske unije, L 80/19, 1-9
- Uredba Komisije (EU) št. 1129/2011 z dne 11. novembra 2011 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z vzpostavitev seznama Unije aditivov za živila. Uradni list Evropske unije, L 295/1, 1-177
- Uredba (ES) št. 1333/2008 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. Uradni list Evropske unije, L 354/16, 1-18
- Weiner A. 2016. Parameters and pitfalls to consider in the conduct of food additive research, Carrageenan as a case study. *Food and Chemical Toxicology* 87: 31- 44

REGULATIVA NA PODROČJU ADITIVOV IN SORODNIH SNOVI

Jana FRANTAR¹ in Blaža NAHTIGAL²

Povzetek: Aditivi so snovi, ki se namensko dodajajo živilom za izboljšanje njihove varnosti in kakovosti. Njihova osnovna naloga je preprečevanje mikrobiološkega kvara, oksidacije in drugih neželenih kemijskih sprememb ter izboljšanje videza, okusa in teksture živil. Uredba (ES) št. 1333/2008 je krovni predpis, ki v Evropski uniji ureja uporabo aditivov v živilih in s celovitimi in poenostavljenimi postopki nadomešča in posodablja prejšnje direktive in odločbe v zvezi z aditivi za živila, dovoljenimi za uporabo v živilih. Razlogi za enotna pravila na ravni Evropske unije so zagotovitev učinkovitega delovanja notranjega trga, visoke ravni varovanja življenja in zdravja ljudi, varstva interesov potrošnikov in njihovih pravic do obveščenosti v zvezi z živilom, ki jih uživajo, ter preprečitev vseh zavajajočih postopkov. Uredba (ES) št. 1333/2008 določa splošne pogoje za vključitev aditivov na seznam Evropske unije. Za uporabo v živilih mora vsak aditiv izpolnjevati določene pogoje: ne sme ogroziti zdravja ljudi, zanj mora obstajati upravičena tehnološka potreba, njegova uporaba ne sme zavajati potrošnika. Bistveno je, da aditivi niso namenjeni prikrivanju slabih surovin ali ne higienskih proizvodnih praks. Zaradi varovanja zdravja ljudi je treba varnost aditivov, ki se uporabljajo v živilih za prehrano ljudi, oceniti pred dajanjem v promet na območju Evropske unije. Uporabljajo se lahko samo aditivi, katerih uporaba ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi in za katere je predvidena uporaba varna. Ker je bila večina odobrenih aditivov glede varnosti ocenjena že pred desetletji, proizvodni procesi v živilski industriji in prehranske navade ljudi pa so se v tem času bistveno spremenile, sedaj poteka ponovna ocena že odobrenih aditivov, ki bo predvidoma zaključena leta 2020. Na podlagi znanstvenega mnenja Evropske agencije za varnost hrane lahko Komisija ustrezno ukrepa, npr. spremeni obstoječe pogoje uporabe ali celo umakne aditiv s seznama Unije. Čeprav živilska zakonodaja temelji na analizi tveganja in natančno predpisuje uporabo (kaj, kdaj, kje, koliko) aditivov, ki morajo biti navedeni na označbi med sestavinami, slovenski potrošniki prepoznavajo aditive kot vir tveganja.

Ključne besede: živilska zakonodaja, aditivi, ocena tveganja

LEGISLATION IN THE FIELD OF FOOD ADDITIVES AND RELATED SUBSTANCES

Abstract: Additives are substances purposely added to foodstuffs for improving their safety and quality. Their essential task is to prevent microbiological spoilage, oxidation and other undesirable chemical changes, and to improve the appearance, taste and texture of foodstuffs. Regulation (EC) No 1333/2008 is the umbrella regulation governing in the European Union the use of additives in foodstuffs and, by integrating and simplifying the procedures, replacing and updating the preceding Directives and Decisions on food additives authorised for use in foodstuffs. Reasons for laying down uniform rules at the level of the European Union comprise the securing of effective functioning of the internal market, a high level of protection of human life and health, the protection of interests of consumers and of their right to information on foodstuffs they are consuming, and the prevention of any misleading practices. Regulation (EC) No 1333/2008 lays down general conditions for including additives in the lists of the European Union. For use in foodstuffs, each additive shall comply with certain conditions: it shall not endanger consumer health, a reasonable technological need shall exist for using it, and its use shall not mislead the consumer. It is vital that additives are not used for covering poor-quality raw materials or unhygienic production practices. For public health protection purposes, the safety of additives to be used in foodstuffs intended for human consumption shall be assessed prior to placing them on the market within the European Union. Used shall be only additives not posing a risk to human health and with a safe intended use. As the safety of most additives had been assessed and approved decades ago, and the

¹ MKGP, Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Dunajska cesta 22, Ljubljana, e-mail: jana.frantar@gov.si

² dr., MKGP, Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Dunajska cesta 22, Ljubljana, e-mail: blaza.nahtigal@gov.si

food industry production processes and human nutritional practices have essentially changed meanwhile, the reassessment of the once approved additives is now under way, and is envisaged to conclude in 2020. Based on the European Food Safety Authority's scientific opinion, the European Commission may take the appropriate actions, as for instance, amending the existing conditions of use, or even delisting a certain additive from the Union list. Though the food law is based on risk analysis and accurately prescribes the use (what, when, where, and how much) of additives, which shall be labelled among the ingredients, the Slovenian consumers still recognise additives as a source of risk.

Key words: food law, additives, risk assessment

1 UVOD

Aditivi so snovi, ki se že stoletja namensko dodajajo živilom za izboljšanje njihove varnosti in kakovosti. Egipčani so uporabljali žveplov dioksid v proizvodnji vina pred 3000 leti, Grki so v Homerjevem času konzervirali meso s soljo in natrijevim nitratom. Osnovna naloga aditivov je preprečevanje mikrobiološkega kvara, oksidacije in drugih neželenih kemijskih sprememb ter izboljšanje videza, okusa in teksture živil, uporabljajo pa se tudi kot pomožna tehnološka sredstva (Saltmarsh, 2013). Zaradi njihove nenadzorovane in pogosto neuskaljene uporabe sta Organizacija Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo (FAO) in Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) leta 1955 organizirali prvo skupno konferenco na temo aditivov za živila in leta 1962 konferenco o standardih za živila, na kateri sta ustanovili Codex Alimentarius komisijo (CAC), ki je začela s svojim delom leta 1963. Codex standardi, smernice in priporočila so postali leta 1995 mednarodna referenca za varnost hrane pri Svetovni trgovinski organizaciji (WTO) in njenem Sporazumu o uporabi sanitarnih in fitosanitarnih ukrepov (SPS Agreement). Seznam odobrenih Codex aditivov, z ocenami tveganja Skupnega strokovnega odbora FAO/WHO za aditive v živilih (JECFA) in specifikacijami, je dostopen na spletni strani: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/> (CA, 2017).

Živilska zakonodaja v Evropski uniji (EU) temelji na analizi tveganja, ki je proces, sestavljen iz treh med seboj povezanih vsebin: ocene tveganja (znanstvena podlaga), obvladovanje tveganja (politična podlaga) in obveščanja o tveganju (medsebojna izmenjava informacij in mnenj o tveganjih). To predpisuje temeljni zakonodajni akt za področje varnosti hrane v EU, Uredba 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane. Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) je odgovorni organ za oceno tveganj, neodvisen znanstveni vir svetovanja in obvestil o tveganjih, povezanih z živilsko verigo, ki zagotavlja znanstveno svetovanje in podporo politikam EU na področjih, ki imajo vpliv na varnost hrane.

Zakonodaja glede uporabe aditivov v živilih je v EU od 11. junija 2013 harmonizirana, kar pomeni, da je v celoti zavezujoča in se neposredno uporablja v vseh državah članicah. Krovni predpis, ki ureja uporabo aditivov v živilih, je Uredba št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o aditivih za živila. Vsak aditiv, ki je odobren za uporabo in je vključen na seznam Unije, ima predpisano specifikacijo. V Uredbi Komisije (EU) št. 231/2012 o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v Prilogah II in III k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta, so predpisane specifikacije za vse aditive, ki so na seznamu Unije. Seznam aditivov za živila, ki so odobreni na ravni EU, se nekoliko razlikuje od Codex Alimentarius, a v Evropski uniji (EU) se lahko dajejo v promet le živila, skladna z EU zakonodajo.

2 EU ZAKONODAJA O ADITIVIH

Uredba št. 1333/2008 je krovni predpis, ki v Evropski uniji ureja uporabo aditivov v živilih. V tej uredbi so predpisane osnovne definicije, pravila za vzpostavitev pozitivnega seznama Unije, posebne zahteve za uporabo sladil in barvil, posebno poglavje o označevanju aditivov ter njihovih mešanic, ki niso/so namenjeni za prodajo končnemu potrošniku, postopkovne določbe ter prehodne in končne določbe. Uredba vsebuje pet prilog, ki natančneje predpisujejo seznam funkcijskih razredov (priloga I), seznam Unije aditivov za živila, odobrenih za uporabo v živilih, in pogoje uporabe (priloga II), seznam Unije aditivov za živila, vključno z nosilci, odobrenimi za uporabo v aditivih za živila, encimih za živila, aromah za živila in hranilih ter pogojih njihove uporabe (priloga III), tradicionalna živila, za katera lahko nekatere države članice še naprej prepovedujejo uporabo nekaterih kategorij aditivov za živila (priloga IV) ter barvila za živila iz člena 24, za katera je treba pri označevanju živil navesti dodatne informacije (priloga V).

Uredba s celovitimi in poenostavljenimi postopki nadomešča in posodoblja prejšnje direktive in odločbe v zvezi z aditivi za živila, dovoljenimi za uporabo v živilih. S 1. junijem 2013 so v državah članicah prenehali veljati nacionalni predpisi in od takrat se neposredno uporabljajo skupna pravila EU. Razlogi za enotna pravila na ravni Evropske unije so zagotovitev učinkovitega delovanje notranjega trga, visoke ravni varovanja življenja in zdravja ljudi, varstva interesov potrošnikov in njihovih pravic do obveščenosti v zvezi z živilo, ki jih uživajo ter preprečitev vseh zavajajočih postopkov.

Vsak aditiv, ki je odobren za uporabo in je vključen na seznam Unije, ima svojo specifikacijo, v katerih so podatki v zvezi s poreklom, merili čistosti in drugimi pomembnimi informacijami. Specifikacija za aditiv se sprejme ob prvi vključitvi aditiva na seznam Unije. Specifikacije za aditive, ki so na seznamu Unije, so predpisane v Uredbi Komisije št. 231/2012 o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v prilogah II in III k Uredbi (ES) št. 1333/2008. Pravila za njihovo uporabo so od 1. decembra 2012 zavezujoča v vseh državah članicah in se neposredno uporabljajo.

2.1 KAJ SO ADITIVI?

Po definiciji v Uredbi št. 1333/2008 »aditiv za živilo pomeni vsako snov, ki se običajno ne uživa kot živilo in običajno ni tipična sestavina živila, ki se iz tehnoloških razlogov namensko dodaja živilu med proizvodnjo, predelavo, pripravo, obdelavo, pakiranjem, prevozom ali hrambo, ne glede na to, ali ima hranilno vrednost ali ne, ter neposredno ali posredno postane ali lahko postane sestavina živila kot taka ali kot stranski proizvod živila«.

Tehnološki razlogi za dodajanje aditivov so različni, zato jih uvrščamo v različne funkcijske razrede. Zakonodaja razlikuje 27 funkcijskih razredov, ki so: sladila, barvila, konzervansi, antioksidanti, nosilci, kisline, sredstva za uravnavanje kislosti, sredstva proti sprijemanju, sredstva proti penjenju, sredstva za povečanje prostornine, emulgatorji, emulgirane soli, utrjevalci, ojačevalci arome, sredstva za penjenje, želirna sredstva, sredstva za glaziranje, sredstva za ohranjanje vlage, modificirani škrobi, plini za pakiranje, potisni plini, sredstva za vzhajanje, veziva, stabilizatorji, sredstva za zgostitev (gostila), sredstva za obdelavo moke, in ojačevalci kontrasta. Aditiv se na podlagi glavne tehnološke funkcije v živilu uvrsti v enega izmed funkcijskih razredov. Navedba funkcijskih razredov in njihov opis sta določena v Prilogi I Uredbe št. 1333/2008.

2.2 SNOVI, KI NISO ADITIVI

Niso vse snovi, ki se dodajamo živilom, aditivi. Živila pogosto vsebujejo snovi, ki so istočasno dovoljene tudi kot aditivi za živila. V jabolkah najdemo npr. barvilo karoten (E 160a), antocianine (E 163), očetno kislino (E 260), askorbinsko kislino (E 300), citronsko kislino (E 330), vinsko kislino (E 334), jabolčno kislino (E 363)... Kis je npr. sestavina, dodana očetna kislina (E 260) je aditiv, limonin sok je sestavina, citronska kislina (E 330) je aditiv.

Zakonodaja (Uredba 1333/2008) določa, kaj so aditivi in navaja tudi izjeme.

K aditivom ne spadajo:

- ✓ monosaharidi, disaharidi ali oligosaharidi in živila, v katerih so vsebovane te snovi, ki se uporabljajo zaradi njihovih sladilnih lastnosti;
- ✓ živila, posušena ali zgoščena, vključno z aromami, ki so med postopkom proizvodnje sestavljenih živil dodana zaradi arome in okusa ali hranilnih lastnosti ter drugega barvnega učinka;
- ✓ snovi, ki se uporabljajo v materialih za pokrivanje ali ovijanje ter niso del živil in niso namenjene za zaužitje skupaj z njimi;
- ✓ izdelki, ki vsebujejo pektin in so pridobljeni iz posušenih jabolčnih tropin ali lupin citrusov ali kutine ali iz njihove mešanice, z obdelavo z razredčeno kislino, ki ji sledi delna nevtralizacija z natrijevimi ali kalijevimi solmi („tekoči pektin“);
- ✓ baze za žvečilni gumi;
- ✓ beli ali rumeni dekstrin, pražen ali dekstriniran škrob, škrob, modificiran s kislinsko ali alkalno obdelavo, beljen škrob, fizikalno modificiran škrob in škrob, obdelan z amilolitičnimi encimi;
- ✓ amonijev klorid;
- ✓ krvna plazma, jedilna želatina, beljakovinski hidrolizati in njihove soli, mlečne beljakovine in gluten;
- ✓ aminokisline in njihove soli, ki nimajo tehnološke funkcije, razen glutaminske kisline, glicina, cisteina ter cistina in njunih soli;
- ✓ kazeinati in kazein;
- ✓ inulin.

2.3 SPLOŠNI POGOJI ZA VKLJUČITEV ADITIVOV NA SEZNAM UNIJE IN ZA NJIHOVO UPORABO V ŽIVILIH

Uredba 1333/2008 določa splošne pogoje za vključitev aditivov na seznam Evropske unije. Za uporabo v živilih mora vsak aditiv izpolnjevati naslednje pogoje:

- ✓ na podlagi razpoložljivih znanstvenih dokazov v predlagani količini ne ogroža zdravja potrošnika;
- ✓ zanj obstaja upravičena tehnološka potreba, ki je ni mogoče doseči z drugimi ekonomsko in tehnološko izvedljivimi sredstvi in
- ✓ njegova uporaba ne zavaja potrošnika.

Poleg naštetega morajo imeti aditivi za živila prednosti in koristi za potrošnika. V ta namen morajo, skupaj z encimi in aromami, izpolnjevati eno ali več naslednjih nalog, kot so ohranjanje hranilne vrednosti živil, zagotavljanje nujno potrebne sestavine ali komponente živil za posebne prehranske namene, krepitev kakovosti ali stabilnosti živil ali izboljšanje senzoričnih lastnosti, ne da bi s tem zavajali potrošnika, ter pomoč pri izdelavi, predelavi, pripravi, obdelavi, pakiranju, transportu ali skladiščenju hrane. Bistveno je, da njihova uporaba ni namenjena prikrivanju slabih surovin ali nehygienskih proizvodnih praks.

2.4 STRUKTURA IN NOVOSTI SEZNAMOV UNIJE ZA ADITIVE

Priloga II Uredbe št. 1333/2008 navaja seznam Unije aditivov za živila, ki so odobreni za uporabo v živilih ter pogoje za njihovo uporabo. Dovoljena je samo uporaba aditivov, vključenih na ta seznam, skladno s pogoji uporabe. Upoštevati je treba predpisane omejitve oziroma izjeme v uporabi.

Seznam Unije je razdeljen na več delov, in sicer na:

- ✓ **del A**, v katerem so navedena splošna pravila;
- ✓ **del B**, ki vsebuje seznam vseh odobrenih aditivov, razvrščenih v tri osnovne skupine (barvila, sladila ter aditivi razen barvil in sladil), z imeni aditivov in njihovimi E- številkami;
- ✓ **del C**, v katerem so aditivi razvrščeni v 5 skupin glede na njihovo uporabo: aditivi, ki so odobreni po načelu »*quantum satis*«, razen izjem; barvila, ki so za uporabo odobrena po načelu »*quantum satis*«; barvila, ki se v živilih uporabljajo s kombiniranimi mejnimi vrednostmi; poliol in drugi aditivi, ki se lahko uporabljajo v kombinaciji (npr. sorbati, benzoati, parahidroksibenzoati, sulfiti, nitriti, nitrati, propionati, galati, fosfati, sorbitan estri, polisorbati, ribonukleotidi...).
- ✓ **del D**, v katerem je navedena razdelitev živil v 18 kategorij oziroma podkategorij in
- ✓ **del E**, v katerem je seznam odobrenih aditivov v posamezni kategoriji živil s pogoji za uporabo.

Bistvena novost je kategorizacijski sistem živil. Vsa živila so razdeljena v 18 osnovnih kategorij, znotraj vsake kategorije pa obstajajo še podkategorije. Vzpostavljene so naslednje kategorije:

1. mlečni izdelki,
2. masti in olja ter maščobne emulzije,
3. sladoledi,
4. sadje in zelenjava,
5. slašičarski izdelki,
6. žita in izdelki iz žit,
7. pekovski izdelki,
8. meso,
9. ribe in ribiški proizvodi,
10. jajca in jajčni proizvodi,
11. sladkorji, sirupi, med in namizna sladila,
12. soli, začimbe, juhe, omake, solate in beljakovinski izdelki,
13. živila za posebne prehranske namene, kakor so opredeljena v Direktivi 2009/39/ES,
14. pijače,
15. gotove pikantne jedi in prigrizki,
16. deserti, razen proizvodov, zajetih v kategorijah 1, 3 in 4,
17. prehranska dopolnila, kakor so opredeljena v Direktivi 2002/46/EC Evropskega parlamenta in Sveta, razen prehranskih dopolnil za dojenčke in majhne otroke,
18. predelana živila, ki niso zajeta v kategorijah od 1 do 17, razen hrane za dojenčke in majhne otroke.

V pomoč pri uvrstitvi živila v ustrezno kategorijo in preverjanju, kateri aditivi so dovoljeni, so objavljene smernice Komisije (EC, 2017), dostopne na spletni povezavi:

http://ec.europa.eu/food/safety/docs/fs_food-improvement-agents_guidance_1333-2008_annex2.pdf.

S Prilogo III k Uredbi št. 1333/2008 je vzpostavljen enotni seznam odobrenih aditivov za živila in njihovi pogoji uporabe v aditivih za živila (dela 1 in 2), v encimih za živila (del 3), v aromah za živila (del 4) in v hranilih ali njihovih kategorijah (del 5), katerim se lahko dodajajo aditivi. Namen uporabe navedenih aditivov za živila je njihova tehnološka funkcija v aditivih za živila ali encimih za živila ali v aromah ali hranilih.

2.5 POSEBNI POGOJI ZA SLADILA

V 7. členu Uredbe št. 1333/2008 so predpisane dodatne zahteve za sladila. Aditiv se lahko uvrsti na seznam Unije s funkcijskim razredom za sladilo, če poleg osnovnih pogojev izpolnjuje še enega ali več naslednjih namenov: ali nadomešča sladkorje za proizvodnjo živil z zmanjšano energijsko vrednostjo, živil proti kariesu ali živil brez dodanih sladkorjev, ali nadomešča sladkorje, če se s tem omogoči podaljšanje roka uporabnosti živil, ali se uporablja v proizvodnji živil za posebne prehranske namene.

2.6 POSEBNI POGOJI ZA BARVILA

V 8. členu Uredbe št. 1333/2008 so predpisane dodatne zahteve za barvila. Aditiv se lahko uvrsti na seznam Unije s funkcijskim razredom za barvilo, če poleg osnovnih pogojev izpolnjuje še enega ali več naslednjih namenov: ali za povrnitev prvotnega videza živilu, katerega barva je bila spremenjena pri predelavi, skladiščenju, pakiranju in dostavi, s čimer se je lahko poslabšala vizualna podoba živila, ali za zagotovitev privlačnejše vizualne podobe živila ali za obarvanje živil, ki so v osnovi brezbarvna.

3 POSTOPEK ZA ODOBRITEV IN UVRSTITEV ADITIVOV NA SEZNAM UNIJE

Zaradi varovanja zdravja ljudi je treba varnost aditivov, encimov in arom, ki se uporabljajo v živilih za prehrano ljudi, oceniti pred dajanjem v promet na območju Evropske unije. Vzpostavitev skupnega postopka za oceno in odobritev teh treh kategorij snovi v Evropski uniji poenostavlja njihov prost pretok na skupnem trgu. Zagotavljanje preglednosti pri proizvodnji živil in ravnanju z njimi pa je ključnega pomena za ohranjanje zaupanja potrošnikov.

Postopek odobritve za aditive, encime in arome, ki se uporabljajo v živilih, je predpisan v Uredbi (ES) št. 1331/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o vzpostavitvi skupnega postopka odobritve za aditive za živila, encime za živila in arome za živila. Postopek odobritve se prične s predložitvijo vloge prosilca na Evropsko komisijo. Prosilec je običajno proizvajalec ali uporabnik določenega aditiva za živila. Vloga mora vsebovati kemijsko identifikacijo aditiva, njegov proizvodni postopek, metode za analizo, reakcije in poti v živilu, primere tehnološke upravičenosti, predvideno uporabo in kategorije živil, v katerih se bo aditiv uporabljal ter toksikološke podatke. Toksikološki podatki morajo zagotavljati informacije o metabolizmu snovi v organizmu, študije sub-kronične in kronične strupenosti, študije rakotvornosti, študije strupenosti za genetski material, strupenosti za razmnoževanje in razvoj ploda in če je potrebno tudi druge študije, povezane z varnostjo uporabe aditiva, npr. študije alergenosti. Na podlagi vseh teh podatkov Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) določi sprejemljivi dnevni vnos (ADI = Acceptable daily intake), ki predstavlja tisto količino snovi, ki jo brez tveganja za zdravje ljudje lahko zaužijemo vsak dan skozi celo življenje. Sprejemljivi dnevni vnos je praviloma določen na podlagi odmerka, ki ni povzročil opaženih učinkov pri poskusih na živalih in z uporabo dodatnega varnostnega faktorja 100, s katerim se zmanjšamo sprejemljivi vnos, in sestoji iz faktorja 10 za tveganje prenosa izsledkov

raziskav na živalih na človeka ter faktorja 10 kot varnostnega faktorja (Saltmarsh, 2013; EFSA, 2017).

Za vse nove aditive Komisija zaprosi EFSA, da oceni njihovo varnost oziroma tveganje, ki bi ga lahko predstavljalo uživanje za zdravje ljudi. Ko EFSA oceni tveganje in predstavi znanstveno mnenje (devet mesecev po prejemu zahteve), Komisija, skupaj s strokovnjaki za aditive iz vseh držav članic, obravnava morebitno odobritev. Pri tem se upoštevajo presoja varnosti, tehnološka upravičenost, možnost napačne uporabe ter prednosti in koristi za potrošnike. Če ustreza kriterijem za aditiv, potem Komisija pripravi zakonodajni predlog za odobritev. Predlog se predstavi na Stalnem odboru za rastline, živali, hrano in krmo, ki o njem glasuje. Če Stalni odbor podpre predlog, je le-ta predstavljen Evropskemu parlamentu in Svetu, ki lahko zavrneta predlog, če presodita, da ne ustreza pogojem uporabe, kot so določeni v zakonodaji.

Vlagatelji dosjejev morajo upoštevati določila iz Uredbe Komisije (EU) št. [234/2011](#) o izvajanju Uredbe (ES) št. 1331/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o vzpostavitvi skupnega postopka odobritve za aditive za živila, encime za živila in arome za živila (spremenjena z Izvedbeno Uredbo Komisije (EU) št. [562/2012](#) o spremembi Uredbe (EU) št. 234/2011 v zvezi s posebnimi podatki, potrebnimi za oceno tveganja živilskih encimov). V pomoč vlagateljem so smernice Komisije (EC, 2016), objavljene na spletni povezavi:

http://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/common_auth_proc_guid_en.

3.1 PROGRAM PONOVNE OCENE VARNOSTI ADITIVOV

Varnost aditivov, ki so v uporabi, je bila v preteklosti preverjena s strani Znanstvenega odbora za hrano (*ang.* Scientific Committee on Food (SCF)), kasneje je to vlogo prevzela EFSA. Samo tisti aditivi, katerih uporaba ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi, se smejo dajati v promet v Evropski uniji. Ker je bila večina aditivov glede varnosti ocenjena že v osemdesetih oziroma devetdesetih letih prejšnjega stoletja, nekateri celo okoli leta 1970, proizvodni procesi v živilski industriji in prehranske navade ljudi pa so se v zadnjih desetletjih bistveno spremenile, je nujna ponovna ocena že odobrenih aditivov. Komisija je sprejela Uredbo Komisije (EU) št. [257/2010](#) o določitvi programa za ponovno oceno odobrenih aditivov za živila v skladu z Uredbo (ES) št. 1333/2008 o aditivih za živila in z njo določila program za ponovno oceno varnosti aditivov za živila, ki so bili v Uniji odobreni pred 20. januarjem 2009. Za izvajanje tega programa je pooblastila EFSA, katere osnovna naloga v evropskem sistemu zagotavljanja varne hrane je ocena tveganja (EFSA, 2017). Na podlagi znanstvenih mnenj EFSA Komisija lahko ustrezno ukrepa, npr. spremeni obstoječe pogoje uporabe ali celo umakne aditiv s seznama Unije.

Vrstni red ponovne ocene aditivov, ki so trenutno odobreni, je določen na podlagi naslednjih meril: časa od zadnje ocene SCF ali EFSA, dostopnosti novih znanstvenih dokazov, obsega uporabe aditiva v živilih in izpostavljenosti ljudi določenemu aditivu za živila. Pri ponovni oceni se upoštevajo rezultati Poročila Komisije o vnosu aditivov za živila s hrano v Evropski uniji iz leta 2001. Zaključek ponovne ocene aditivov je načrtovan do konca leta 2020. Na podlagi ponovnega ocenjevanja barvil so bili za tri barvila (E 104 kinolinsko rumeno, E 110 sončno rumeno in E 124 rdeče 4R) že sprejeti ukrepi. EFSA je za ta tri barvila zmanjšala sprejemljivi dnevni vnos (ADI), saj je ugotovila, da bi bil vnos za posamezne populacijske skupine lahko (pre)visok. Komisija je na podlagi mnenja sprejela Uredbo Komisije, s katero so se za ta barvila sprejeti strožji pogoji za uporabo. V začetku leta 2012 so se tako zmanjšale največje dovoljene

količine teh barvil v živilih. Pri ponovni oceni estrov montanske kisline (E 912) ni bilo predloženih podatkov o toksikokinetiki ter reproduktivni in razvojni toksičnosti. Zaradi tega je Komisija sprejela Uredbo Komisije (EU) št. 957/2014 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 ter Priloge k Uredbi Komisije (EU) št. 231/2012 glede črtanja estrov montanske kisline (E 912), s katero se je estre montanske kisline črtalo s seznama Unije.

4 INFORMACIJE O ADITIVIH, KI SO BILI UPORABLJENI V ŽIVILIH

Vsako predpakirano živilo, ki so mu bili dodani aditivi, mora imeti med sestavinami navedene tudi aditive. Na seznamu sestavin je treba navesti funkcijski razred (barvilo, sladilo, konzervans...), ki mu sledi njihovo specifično ime **ali** številka E. Če ima aditiv več funkcij, se navede tisto, ki ustreza glavni funkciji, ki jo ima v živilu. Te zahteve so predpisane v Uredbi št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom, delu C Priloge VII.

Primer navedbe na seznamu sestavin: »barvilo, kurkumin« ali »barvilo, E 100«. Vsak odobren aditiv ima predpono oziroma kodo E, ki je bila leta 1986 vpeljana kot poenostavitev za označevanje snovi z zapletenimi kemijskimi imeni in je pomenila znanstveno utemeljeno, varno uporabo. Danes ima črka E na označbi negativen predznak, potrošniki jo zaznavajo kot tveganje, zato se proizvajalci pri označevanju raje odločajo za izpis celotnega imena (Saltmarsh, 2013).

Uredba 1169/2011 zahteva dodatno označevanje za živila, ki vsebujejo sladila. Vsak izdelek z dodanim sladilom mora ob svojem imenu vsebovati navedbo »s sladilom(i)«. Če izdelek vsebuje aspartam ali sol aspartama-acesulfama, jo lahko proizvajalec na označbi navede na dva načina, ki pa zahtevata tudi dodatno informacijo za potrošnika. Če je na seznamu sestavin aspartam naveden kot »sladilo, aspartam«, je zahtevana dodatna informacija »vsebuje vir fenilalanina«. Če je aspartam naveden kot »sladilo, E 951«, je zahtevana dodatna informacija »vsebuje aspartam (vir fenilalanina)«. Za vsa živila, ki vsebujejo več kot 10 % dodanih poliolov, je treba navesti tudi »prekomerno uživanje ima lahko odvajalni učinek«.

4.1 ADITIVI, KI IZVIRAJO IZ SNOVI, KI POVZROČAJO ALERGIJE ALI PREOBUČUTLJIVOSTI

Vse sestavine ali pomožna tehnološka sredstva, ki jih vsebuje živilo in so vključena na seznam snovi ali proizvodov, ki povzročajo alergije ali preobčutljivosti v Prilogi II Uredbe 1169/2011, morajo biti navedena na seznamu sestavin z jasnim sklicevanjem na ime snovi ali proizvoda, poudarjena z vrsto pisave, ki se jasno razlikuje od preostalega seznama sestavin. Na seznamu alergenih snovi so žita, ki vsebujejo gluten, raki, jajca, ribe, arašidi, zrnje soje, mleko, oreški (mandlji, lešniki, orehi, indijski oreščki, ameriški orehi, brazilski oreščki, pistacija, makadamija), zelena, gorčično seme, sezamovo seme, volčji bob in mehkužci ter proizvodi iz naštetih snovi in žveplov dioksid in sulfiti v koncentraciji več kot 10 mg/kg ali 10 mg/l glede na skupni SO₂.

V primeru aditivov, ki so pridobljeni ali izvirajo iz alergenih sestavin, številka E ne zadostuje, ustrezno pa je treba dopolniti tudi ime. E 222 je lecitin, pri katerem je treba na seznamu sestavin napisati vir, če spada med alergene snovi: **sojin** lecitin. E 1105 je lizocim, ki je pridobljen iz jajc, kar mora biti navedeno na označbi: lizocim (**jajca**).

4.2 DODATNE INFORMACIJE O UPORABI BARVIL

Od 20. julija 2010 dalje morajo biti predpakirana živila, ki vsebujejo eno ali več barvil, navedenih v Preglednici 1, dodatno označena. Dodatno označevanje se zahteva za šest sintetičnih oziroma azo barvil. Te zahteve so določene v Prilogi V Uredbe št. 1333/2008.

Preglednica 1: Dodatne zahteve za označevanje azo-barvil (Priloga V Uredbe 1333/2008)

Ime oziroma E-številka	Dodatno označevanje
tartrazin ali E 102	» lahko škodljivo vpliva na aktivnost in pozornost otrok«
kinolinsko rumeno ali E 104	
sončno rumeno FCF, oranžno rumeno S ali E 110	
azorubin, karmoizin ali E 122	
rdeče 4R, košenil rdeče A ali E 124	
alura rdeče AC ali E 129	

Dodatno označevanje ni potrebno pri:

- ✓ živilih, pri katerih je bilo zgoraj navedeno barvilo uporabljeno za označevanje zdravstvene ustreznosti za mesne izdelke, ter žigosanje ali okrasno barvanje jajčnih lupin, in
- ✓ pijačah, ki vsebujejo več kot 1,2 volumenskega odstotka alkohola.

5 ZAKONODAJA ZA OSTALE SORODNE SNOVI

5.1 AROME

Uredba (ES) št. 1334/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o aromah in nekaterih sestavinah živil z aromatičnimi lastnostmi za uporabo v in na živilih ter spremembi Uredbe Sveta (EGS) št. 1601/91, uredb (ES) št. 2232/96 in (ES) št. 110/2008 ter Direktive 2000/13/ES (v nadaljevanju Uredba št. 1334/2008) je predpis, ki v Evropski uniji ureja uporabo arom in sestavin živil z aromatičnimi lastnostmi v živilih. V tej uredbi so predpisane osnovne definicije, pravila za vzpostavitev pozitivnega seznama Unije, posebne zahteve za uporabo izraza naraven, posebno poglavje o označevanju arom ter njihovih mešanic, ki niso/so namenjene za prodajo končnemu potrošniku, postopkovne določbe, prehodne in končne določbe.

Na področju arom je na ravni EU trenutno vzpostavljen le seznam Unije aromatičnih snovi. S sprejetjem Uredbe Komisije št. 872/2012 je bil vzpostavljen kot del A Priloge I k Uredbi št. 1334/2008. Pravila za njihovo uporabo so od 22. oktobra 2014 zavezujoča v vseh državah članicah in se neposredno uporabljajo. V bodoče bodo vzpostavljeni še naslednji sezname Unije: aromatični pripravki, pridobljeni iz surovine, ki ni živilo (kot del B priloge I); aromatični pripravki, pridobljeni iz surovine, ki ni živilo (kot del B priloge I); arome, pridobljene s toplotnim procesom iz surovine, ki ni živilo in/ali s postopkom pri temperaturi, višji od 180 °C (kot del C priloge I); predhodniki arom, pridobljeni iz surovine, ki ni živilo (kot del D priloge I); izvirne snovi, iz surovine, ki ni živilo (del F priloge I).

5.2 AROME DIMA

Področje arom dima je obravnavano ločeno, ureja jih Uredba (ES) št. 2065/2003 Evropskega parlamenta in Sveta o aromah dima, ki se uporabljajo ali so namenjene uporabi v ali na živilih. S sprejetjem izvedbene Uredbe Komisije (EU) št. 1321/2013 o

vzpostavitvi seznama Unije z odobrenimi primarnimi aromami dima, ki se smejo kot take uporabljati v živilih ali na njih in/ali za proizvodnjo iz njih pridobljenih arom dima, je bil vzpostavljen Seznam Unije z odobrenimi primarnimi aromami dima. Na seznamu je 10 primarnih arom dima. Odobritev arom dima je specifična, saj je dana konkretnemu imetniku in sicer za obdobje 10 let, do 1. januarja 2024. V prilogi te uredbe so za vsak odobreni primarni proizvod navedeni enkratna oznaka proizvoda, ime proizvoda, ime in naslov imetnika dovoljenja, opis in značilnosti proizvoda, pogoji njegove uporabe v določenih živilih ali kategorijah živil ali na njih, datum, od katerega je proizvod odobren, in datum, do katerega je proizvod odobren. Nosilci živilske dejavnosti, ki pri proizvodnji živil uporabljajo arome dima, so imeli leto dni časa za prilagoditev tej zakonodaji. Od 1. januarja 2015 se morajo arome dima uporabljati skladno z zakonodajo.

5.3 ENCIMI

Uredba (ES) št. 1332/2008 Evropskega parlamenta in Sveta o encimih za živila in spremembi Direktive Sveta 83/417/EGS, Uredbe Sveta (ES) št. 1493/1999, Direktive 2000/13/ES, Direktive Sveta 2001/112/ES in Uredbe (ES) št. 258/97 je krovni predpis za encime, ki se uporabljajo v živilih, vključno z encimi, ki se uporabljajo kot pomožna tehnološka sredstva. V tej uredbi so predpisane osnovne definicije, pravila za vzpostavitev pozitivnega seznama Unije, posebno poglavje o označevanju encimov ter pripravkov, ki niso/so namenjeni za prodajo končnemu potrošniku, postopkovne določbe, prehodne in končne določbe. Na področju encimov pozitivni seznam Unije še ni vzpostavljen.

Predvidoma do konca letošnjega leta (2017) naj bi Komisija vzpostavila javni register vseh živilskih encimov, za katere so bile predložene veljavne vloge. To so vloge, posredovane v prepišanem roku in z vsemi podatki, ki jih zahteva zakonodaja. Za večjo preglednost je Komisija na svoji spletni strani objavila seznam veljavnih vlog za encime, za katere bo EFSA ocenila tveganje oziroma pripravila znanstveno oceno o varni uporabi (EC, 2017):

https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/enzymes/eu_list_app_en.

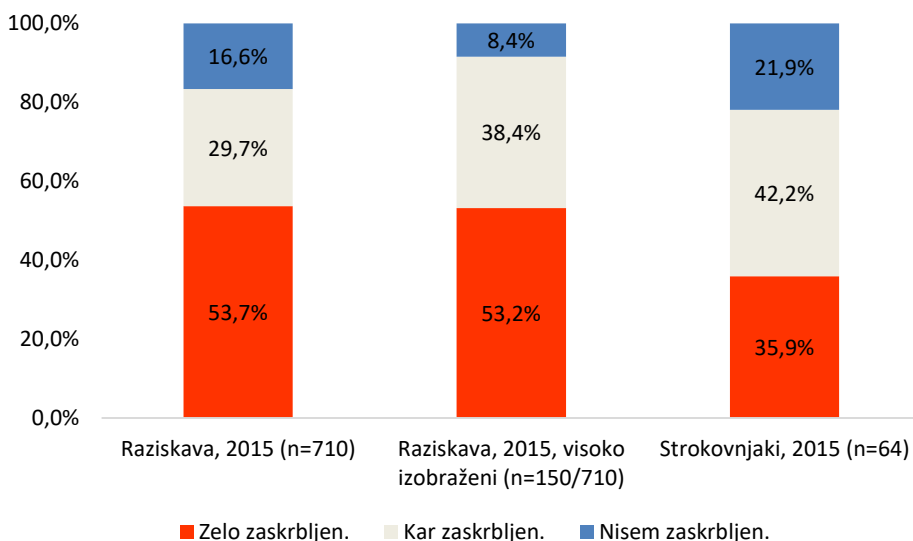
V okviru zakonodaje o aditivih za živila (Uredba št. 1333/2008) sta odobrena dva encima: invertaza (E 1103) in lizocim (E 1105), ki bosta razveljavljena z vzpostavitvijo seznama Unije za encime.

6 ADITIVI ZA ŽIVILA IN ZAZNAVA TVEGANJA PRI POTROŠNIKIH

Slovinci imamo prevladujoče negativen odnos do novih tehnologij v proizvodnji hrane in smo zelo zaskrbljeni glede varnosti hrane, ki ji uživamo, kar kažejo rezultati javnomnenjskih raziskav Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, EFSA informacijske točke (MKGP, 2011; MKO, 2013; MKGP, 2015). Zaskrbljenost zaradi dodatkov, kot so barvila, konzervansi ali snovi, ki dajejo hrani in pijači okus, ostankov pesticidov v hrani ter kakovosti in svežosti hrane, ki jo uživamo, je prikazana na sliki 2 za leto 2011, 2013 in 2015. Slika 1 prikazuje stopnje zaskrbljenosti v letu 2015 pri splošni populaciji (n = 710), visoko izobraženi splošni populaciji (n = 50/710) in pri strokovnjakih s področja varnosti hrane (n = 64), ki so se udeležili EFSA strokovnega srečanja in izpolnili vprašalnik.

Čeprav evropska zakonodaja natančno predpisuje uporabo (kaj, kdaj, kje, koliko) aditivov, arom in encimov, ki so navedeni na označbi med sestavinami, nezaupanje potrošnikov ostaja. Leta 2015 je bila zelo zaskrbljena dobra tretjina slovenskih

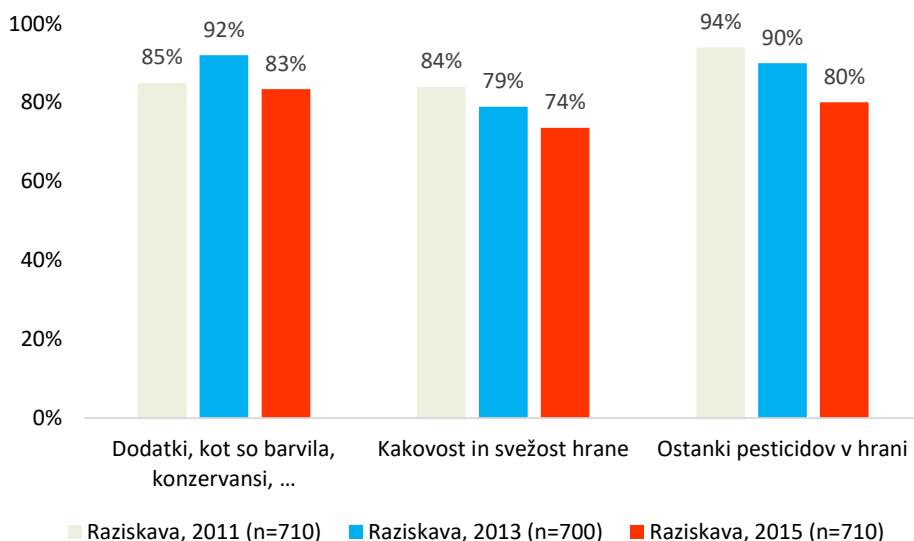
strokovnjakov in polovica anketirancev, ne glede na stopnjo izobrazbe. Varni uporabi aditivov za živila popolnoma zaupa dobra petina strokovnjakov in le 8 % izobraženih anketirancev (MKGP, 2015).



Slika 1: Zaskrbljenost slovenskih potrošnikov glede dodatkov, kot so barvila, konzervansi ali snovi, ki dajejo hrani in pijači okus

Za osveščene potrošnike je danes pomemben tudi vir, iz katerega so pridobljeni aditivi ter način proizvodnje, ki nista označena na izdelku, razen v primeru snovi, ki lahko povzročajo alergije in preobčutljivosti. Za večje zaupanje potrošnikov se danes živilska industrija poslužuje prostovoljnega negativnega označevanja in na izdelku označi, česa le-ta ne vsebuje – brez umetnih arom, brez dodanih konzervansov, brez ojačevalcev okusa... Pri tem lahko pride do zavajanja, saj Uredba 1169/2011 predpisuje, da informacije o živilih ne smejo biti zavajajoče glede značilnosti živila in z napeljevanjem, da ima živilo posebne lastnosti, če imajo take lastnosti vsa istovrstna živila, zlasti s poudarkom na prisotnosti ali odsotnosti določenih sestavin in/ali hranil.

Glede na način proizvodnje so lahko barvila naravna, naravno identična ali sintetična, vendar zakonodaja ne zahteva tovrstnega označevanja. Naravna barvila so pridobljena iz rastlinskih virov (npr. antociani iz rdečega sadja) in so neobstoja glede na pH, temperaturo in svetlobo. Naravno identična barvila so sintetizirane spojine, ki so kemijsko identične naravnim (npr. β -karoten, riboflavin). Naravna in naravno-identična barvila so hidrofobna in večinoma netopna v vodi, zato jih spremenijo v soli, topne v vodi ali jih raztopijo v hidrofobnem mediju. Sintetična barvila so kemijsko proizvedena (npr. tartrazine, karmozin) in hidrofilna, zato se lahko živilom dodajajo neposredno, brez predhodne priprave (Msagati, 2013).



Slika 2: Medčasovna primerjava zaskrbljenosti (zelo zaskrbljen + kar zaskrbljen) slovenskih potrošnikov glede dodatkov, kot so barvila, konzervansi ali snovi, ki dajejo hrani in pijači okus, kakovosti in svežosti hrane ter ostankov pesticidov v hrani

7 IZZIVI NA PODROČJU ADITIVOV

Nepotrebni, nenaravni, slabi in nevarni so pridevniki, ki najpogosteje spremljajo aditive. A zakonodaja je jasna – aditivi morajo imeti tehnološko funkcijo v živilu, dodani so lahko v minimalnih količinah, potrebnih za njihov učinek. Uporabljajo se lahko le odobreni aditivi, ki ne predstavljajo tveganja za zdravje ljudi. Oznaka E je tista, ki dokazuje varnost aditiva, a danes jo potrošniki razumejo kot vir tveganja. Uporaba aditivov je bistvena za živilsko industrijo pri izpolnjevanju potreb in želja potrošnikov. Aditivi, ki omogočajo raznovrstno, varno, kakovostno, hranljivo, privlačno, cenovno sprejemljivo izbiro izdelkov skozi vse leto, se danes uporabljajo masovno. Zaradi izrazito negativnega javnega mnenja, ki spremlja aditive, je živilska industrija uvedla prostovoljno oznako »clean label«, s katero označuje predvsem izdelke brez umetnih barvil, arom in ojačevalcev okusa. Dodajajo živilske ekstrakte, ki imajo lastnost obarvanja živil. Opređeljeni so v Smernicah o razvrstitvi živilskih izvlečkov z značilnostmi barvil in morajo ustrezati predpisanim kriterijem (EC, 2013).

Področje aditivov in sorodnih snovi je izziv tudi za znanstvenike. Seznam Unije aromatičnih snovi, arom dima, aditivov in živilskih ekstraktov, ki se lahko uporabljajo v živilih, je obsežen, žal pa za preverjanje skladnosti z zakonodajo za številne od teh snovi še ni validiranih analitskih metod. Nova živila, nove sestavine, nove tehnologije spreminjajo globalna tveganja v lokalna, potrošniki uživajo v bogati ponudbi, ki ni več odvisna od letnih časov in zemljepisne širine, a abstraktnost prehranske verige vzbuja nezaupanje.

Več kot polovica anketirancev iz javnomnenjske raziskave (MKGP, 2015) se ne strinja s trditvijo, da je hrana danes bolj varna kot v preteklosti. Danes so potrošniki mnogo bolj zaskrbljeni glede varnosti hrane kot v preteklosti. Zaskrbljeni so zaradi stvari, ki predstavljajo zelo majhno tveganje, in o njih v preteklosti sploh niso razmišljali. Kljub

obsežni zakonodaji na področju aditivov in sorodnih snovi, nadzoru in obvladovanju tveganj so prepričani, da država in živilska industrija ne storita dovolj za zagotavljanje varne hrane. Zato je treba povečati prepoznavnost tako države kot znanstvenikov na področju varne hrane z ustreznim komuniciranjem in predstavitvijo razmerja med tveganji in koristmi.

8 VIRI

- CA. 2017. Codex General Standard for Food Additives (GSFA) Online Database. Codex Alimentarius. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/> (maj 2017)
- EC. 2013. Guidance notes on the classification of food extracts with colouring properties. European Commission. 18 str. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_food-improvement-agents_guidance_additive-eu-rules.pdf (maj 2017)
- EC. 2016. Common Authorisation Procedure, Practical Guidance for applicants. European Commission. 36 str. https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/common_auth_proc_guid_en (maj 2017)
- EC. 2017. Food enzyme applications submitted to the Commission within the legal deadline (from 11 September 2011 to 11 March 2015). European Commission: 35 str. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_food-improvement-agents_enzymes-applications.pdf (maj 2017)
- EC. 2017. Guidance document describing the food categories in Part E of Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 on Food Additives. Brussels. European Commission: 33 str. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_food-improvement-agents_guidance_1333-2008_annex2.pdf (maj 2017)
- EFSA. 2017. Food additives. <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-additives> (maj 2017)
- Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 562/2012 z dne 27. junija 2012 o spremembi Uredbe (EU) št. 234/2011 v zvezi s posebnimi podatki, potrebnimi za oceno tveganja živilskih encimov. Uradni list Evropske unije, L 168: 21-23
- Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 872/2012 z dne 1. oktobra 2012 o sprejetju seznama aromatičnih snovi iz Uredbe (ES) št. 2232/96 Evropskega parlamenta in Sveta, njegovi uveljavitvi v Prilogi I k Uredbi (ES) št. 1334/2008 Evropskega parlamenta in Sveta ter razveljavitvi Uredbe Komisije (ES) št. 1565/2000 in Odločbe Komisije 1999/217/ES. Uradni list Evropske unije, L 267: 1-161
- Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 1321/2013 z dne 10. decembra 2013 o vzpostavitvi seznama Unije z odobrenimi primarnimi aromami dima, ki se smejo kot take uporabljati v živilih ali na njih in/ali za proizvodnjo iz njih pridobljenih arom dima. Uradni list Evropske unije, L 333: 54-67
- MKGP. 2011. Raziskava javnega mnenja o tveganjih, povezanih z nanotehnologijo, o varnosti hrane in prepoznavnosti Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) v Sloveniji. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, EFSA informacijska točka: 44 str. http://www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/podrocja/Varna_in_kakovostna_hrana_in_krma/EFSA_info_tocka/anketa_efsa_2011.pdf (maj 2017)
- MKGP. 2015. Javnomnenjska raziskava o varnosti hrane in prepoznavnosti EFSA v Sloveniji. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, EFSA informacijska točka: 67 str. http://www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/podrocja/Kmetijstvo/Informacijska_tocka_EFSA/EFSA_raziskava_SLO.pdf (maj 2017)
- MKO. 2013. Raziskava javnega mnenja o varnosti hrane in prepoznavnosti Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) v Sloveniji. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, EFSA informacijska točka: 51 str. http://www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/podrocja/Varna_in_kakovostna_hrana_in_krma/EFSA_info_tocka/anketa_prepoznavnost_efsa_2013.pdf (maj 2017)
- Msagati T.A.M. 2013. Chemistry of Food Additives and Preservatives. 1st ed. West Sussex, Wiley-Blackwell, 322 str.
- Saltmarsh M. 2013. Essential Guide to Food Additives. 4th ed. Cambridge, RSC Publishing: 294 str.
- 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. Uradni list Evropskih skupnosti, L 31: 1-24
- Uredba (ES) št. 1331/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o vzpostavitvi skupnega postopka odobritve za aditive za živila, encime za živila in arome za živila. Uradni list Evropske unije, L 354: 1-6
- Uredba (ES) št. 1332/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o encimih za živila in spremembi Direktive Sveta 83/417/EGS, Uredbe Sveta (ES) št. 1493/1999, Direktive 2000/13/ES, Direktive Sveta 2001/112/ES in Uredbe (ES) št. 258/97. Uradni list Evropske unije, L 354: 7-15

- Uredba št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. Uradni list Evropske unije, L 354: 16-33
- Uredba (ES) št. 1334/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o aromah in nekaterih sestavinah živil z aromatičnimi lastnostmi za uporabo v in na živilih ter spremembi Uredbe Sveta (EGS) št. 1601/91, uredbe (ES) št. 2232/96 in (ES) št. 110/2008 ter Direktive 2000/13/ES. Uradni list Evropske unije, L 34: 1-50
- Uredba (EU) št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom, spremembah uredb (ES) št. 1924/2006 in (ES) št. 1925/2006 Evropskega parlamenta in Sveta ter razveljavitvi Direktive Komisije 87/250/EGS, Direktive Sveta 90/496/EGS, Direktive Komisije 1999/10/ES, Direktive 2000/13/ES Evropskega parlamenta in Sveta, direktiv Komisije 2002/67/ES in 2008/5/ES in Uredbe Komisije (ES) št. 608/2004. Uradni list Evropske unije, L 304: 18-63
- Uredba Komisije (EU) št. 231/2012 z dne 9. marca 2012 o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v prilogah II in III k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta. Uradni list Evropske unije, L 83: 1-295
- Uredba Komisije (EU) št. 232/2012 z dne 16. marca 2012 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta v zvezi s pogoji in ravni uporabe za kinolinsko rumeno (E 104), sončno rumeno FCF/oranžno rumeno S (E 110) in rdeče 4R, košenil rdeče A (E 124). Uradni list Evropske unije, L 78: 1-12
- Uredba Komisije (EU) št. 957/2014 z dne 10. septembra 2014 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta ter Priloge k Uredbi Komisije (EU) št. 231/2012 glede črtanja estrov montanske kisline (E 912). Uradni list Evropske unije, L 270: 1-3

UPORABA ADITIVOV V ŽIVILSTVU – MESO IN MESNI IZDELKI

Tomaž POLAK¹ in Lea DEMŠAR²

Povzetek: V tehnologiji predelave mesa se poleg osnovnih surovin uporabljajo različni aditivi in drugi dodatki. Z dodajanjem aditivov in drugih dodatkov v meso in mesne izdelke izboljšamo predvsem senzorične in tehnološke lastnosti, podaljšamo obstojnost ter zagotovimo mikrobiološko neoporečnost izdelkov. V članku je podan pregled najpomembnejših in najpogostejših aditivov in drugih dodatkov v mesni industriji. Mesnim izdelkom in mesnim pripravkom namreč lahko dodajamo različne aditive naslednjih funkcijskih razredov: konzervanse, antioksidante, emulgatorje, sredstva za uravnavanje kislosti, kisline, stabilizatorje, zgoščevalce in sredstva za želiranje, barvila, ojačevalce arome, pline za pakiranje in praške za površinsko obdelavo klobas. Med dodatne sestavine, ki se uporabljajo v predelavi mesa, a po Uredbi (ES) 1333/2008 ne spadajo med aditive za živila, sodijo še voda, sol, ogljikovi hidrati in sladkorji, beljakovine, arome, encimi in encimski preparati. V drugem delu članka so predstavljeni poglobitveni aditivi in njihove tehnološke funkcije v različnih vrstah mesnih izdelkov, kot so barjene klobase, jetrna pašteta, konzervirano meso, sušene salame, sušeno meso, meso s povečano vsebnostjo vode in marinirano meso.

Glavne besede: meso, mesni izdelki, aditivi, drugi dodatki, tehnološke lastnosti

USE OF ADDITIVES IN FOOD – MEAT AND MEAT PRODUCTS

Abstract: In the meat technology besides to the basic raw materials various additives and other ingredients are used. With the addition of additives and other ingredients in the meat and meat products the sensory and technological properties are improved, as well as prolonged stability and microbial integrity are assured. This article provides an overview of the most important and the most common additives and other ingredients in the meat industry. Meat products and meat preparations namely can be prepared with various functional classes of food additives in foods and of food additives in food additives and food enzymes: preservatives, antioxidants, emulsifiers, acidity regulators, acids, stabilizers, firming and gelling agents, colours, flavour enhancers, packaging gases and powders for the surface treatment of sausages. Among other ingredients used in the meat processing which according to Regulation (EC) No 1333/2008 do not belong to food additives are: water, salt, carbohydrates and sugars, proteins, flavourings, enzymes and enzyme preparations. The second part of article presents the main additives and their technological function in different types of meat products, such as cooked sausages, liver pate, preserved meat, raw fermented salami, cured air-dried meat products, moisture-enhanced (case-ready) and marinated meat.

Key words: meat, meat products, additives, other ingredients, technological properties

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tomaz.polak@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

V tehnologiji predelave mesa se poleg osnovnih sestavin uporablja množica dodatnih sestavin in aditivov. Aditivi so snovi, ki se namensko dodajo živilu iz tehnoloških razlogov v proizvodnji, predelavi, pripravi, obdelavi, pakiranju, transportu, hrambi in s tem posredno ali neposredno postanejo sestavina živila (Uredba (ES) 1333/2008). Aditivi imajo v predelavi mesa naslednje funkcije: senzorično, tehnološko, prehransko in antimikrobno. V proizvodnji mesnin in mesnih pripravkov se uporabljajo aditivi, ki pripadajo k naslednjim kategorijam: konzervansi, antioksidanti, emulgatorji, emulgirne soli, sladila, sredstva za zgostitev (zgoščevala), želirna sredstva, stabilizatorji vključno s stabilizatorji pene, ojačevalci arome, kisline, sredstva za uravnavanje kislosti, modificirani škrobi, plini za pakiranje. Mnogi aditivi imajo dve ali več funkcionalnih lastnosti (Žlender, 2017). Med dodatne sestavine, ki se uporabljajo v predelavi mesa, a po Uredbi (ES) 1333/2008 ne spadajo med aditive za živila, pa poleg vode in soli (natrijev klorid) sodijo še določene sestavine živalskega in rastlinskega izvora, kot so ogljikovi hidrati in sladkorji, beljakovine, arome, encimi in encimski preparati.

2 NAJPOGOSTEJŠI ADITIVI V MESNI INDUSTRIJI

2.1 KONZERVANSI

Konzervansi so aditivi, ki podaljšajo obstojnost živil, tako da jih ščitijo pred mikrobiološkim kvarjenjem. Najpomembnejši konzervansi v proizvodnji mesnin so nitriti in nitrati (E 249-252), ki so sestavina razsola. Kot konzervansi se v proizvodnji predpakiranega mletega mesa in mesnih pripravkov uporabljajo **ocetna kislina (E 260) ali acetati (E 261-263), mlečna kislina (E 270) in ogljikov dioksid (E 290)**. Za razliko od nitrato in nitritov, njihova količina ni omejena in se uporablja *quantum satis* (po potrebi). Uporaba **SO₂ (E 220) in žveplovega sulfita (E 221-228)** je dovoljena v količini do 450 mg/kg samo za določene mesne pripravke. Za površinsko obdelavo sušenih razsoljenih klobas se lahko uporablja **natamicin (E 235)** v količini do 1 mg/dm² (brez prisotnosti v nadevu v globini do 5 mm). Sušene mesnine se lahko površinsko obdelajo s **sorbinsko kislino (E 200), benzojsko kislino (E 210), sorbati (E 202-203) in benzoati (E211-219), posamezno ali v kombinaciji** (Uredba (ES) 1333/2008).

Po Uredbi (ES) 1333/2008 Evropskega parlamenta in sveta o aditivih za živila se natrijev **nitrat** (E 251) in kalijev **nitrat** (E252) lahko uporabljata v sušenih mesninah (niso toplotno obdelane) v koncentraciji do 150 mg/kg (sušene mesnine). Natrijev **nitrit** (E 250) in kalijev **nitrit** (E 249) pa se lahko uporabljata v proizvodnji sušenih in pasteriziranih mesnin v koncentraciji do 150 mg/kg. Pri steriliziranih mesninah se lahko uporabljata v koncentraciji do 100 mg/kg. Izjema so nekatere tradicionalne mesnine, izdelane po postopku mokrega, suhega ali kombiniranega razsoljevanja, kjer so količine dodanega nitrata ali nitrita drugače regulirane. V nekaterih primerih je predpisan tudi največji dovoljen ostanek nitrita, in sicer od 50 do 175 mg/kg, odvisno od izdelka. Nitriti skupaj z amini tvorijo nitrozamine, ki so kancerogeni za ljudi. V živila se lahko dodajajo le v mešanici s soljo (nitritov od 0,5 % do 20 %) ali nadomestkom za sol (Feiner, 2006; Demšar in Polak, 2010). **Nitrati** se prav tako uporabljajo za ohranitev in razvoj rdeče barve mesa. So manj reaktivni in manj toksični kot nitriti. Na meso in mesne izdelke ne vplivajo neposredno, ampak predstavljajo zalogo nitrita in predstavljajo nevarnost za nastanek kancerogenih nitrozaminov (Saltmarsh, 2013). Nitriti sodelujejo pri oblikovanju značilne arome in barve razsoljenega mesa (30-50 ppm) ter imajo posreden antioksidativen učinek (20-60 ppm) (Feiner, 2006). Značilna, stabilna rdeča barva razsoljenega mesa se razvije v reakciji nitrita z mioglobinom. Dušikov oksid (NO) reagira s hemom (Fe²⁺), ki tvori nitrozomioglobin. Šele med nadaljnjo toplotno obdelavo

se zaradi denaturacije globinske komponente nitrozomioglobin pretvori v nitrozomiokromogen, ki nato mesu daje značilno rožnato barvo razsoljenega mesa. Meso in mesni izdelki brez dodanega nitrita po toplotni obdelavi postanejo sive barve (Heinz in Hautzinger, 2007; Xiong, 2012). Nitriti (v koncentraciji 80-140 ppm) zavirajo rast bakterij, kot so *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* ter še posebej rast in tvorbo toksinov bakterij vrste *Clostridium botulinum* v razsoljenih izdelkih, vendar ne delujejo proti plesnim ali kvasovkam (Feiner, 2006; Shafiur Rahman, 2007). Iz tehnološkega vidika lahko zelo majne količine nitritov in nitratov povzročajo težave, ko se v nerazsoljenih izdelkih lahko pojavi rožnat odtенок. Prisotnost rožnatega odtenka je lahko posledica uporabe določenih začimb ali vode (do 70 ppm nitratov), pa tudi prekajevanja. Prevelika uporaba nitrita (nad 600 ppm) v mesnih izdelkih povzroča zelene diskoloracije, znane kot nitritni ožig (Feiner, 2006).

2.2 ANTIOKSIDANTI

Antioksidanti so snovi, ki podaljšajo rok uporabnosti živil tako, da jih ščitijo pred kvarjenjem, ki ga povzroča oksidacija, ki vodi v žarkost maščob in sprememba barve. Za stabilizacijo predpakiranih pripravkov svežega mletega mesa in mesnih pripravkov se uporabljajo **askorbinska kislina (E 300)**, **natrijev (E 301) in kalijev (E 302) askorbat**, za razsoljene sušene in toplotno obdelane mesnine **eritorbinska kislina (E 315)**, **natrijev eritorbat (E 316) in ekstrakti rožmanina (E 392)**, za dehidrirano meso pa lahko tudi **galati, terc-butilhidrokinon (TBHQ) in butilhidroksianizol (BHA) (E 310-320)**. Maksimalna dovoljena količina v razsoljenih sušenih in toplotno obdelanih mesninah za eritorbinsko kislino in natrijev eritorbat je 500 mg/kg, v dehidriranem mesu za galate, TBHQ in BHA 200 mg/kg maščobe, za ekstrakte rožmarina pa je dovoljena količina odvisna od vrste izdelka (15-150 g/kg) (Uredba (ES) 1333/2008). Askorbati in eritorbati se uporabljajo kot reducenti nitrita v NO, pospešijo razvoj in stabilizacijo barve razsoljenega mesa, preprečijo pojav diskoloracij in inhibirajo pojav nitrozaminov (Feiner, 2006).

2.3 EMULGATORJI

Emulgatorji so snovi, ki omogočajo nastanek ali ohranjanje homogene mešanice dveh ali več medsebojno nezdržljivih faz, kot sta olje in voda, v živilu (Uredba (ES) 1333/2008). V predelavi mesa so to največkrat različne mesne emulzije, npr. barjene klobase in različni namazi (paštete). V proizvodnji mesnin se največkrat kot emulgatorji uporabljajo **lecitin (E 322)**, **monogliceridi in digliceridi maščobnih kislin (E 471)**, **estri očetne, mlečne, citronske in vinske kisline z mono- in di-gliceridi maščobnih kislin (E 472a-f)** (Feiner, 2006). Lastnosti emulgatorjev imajo tudi fosfati in modificirani škrobi. Emulgatorji so molekule z lipofilnim in hidrofilnim koncem. Hidrofilen konec emulgatorja se usmeri v vodno fazo, lipofilen pa proti maščobam. Na ta način emulgatorji oblikujejo nekakšen zaščitni film okrog razpršenih maščobnih kapljic, ki se ne morejo med seboj združevati in emulzijo zaščitijo pred destabilizacijo oz. izločanjem maščobe in/ali vode tudi med postopkom toplotne obdelave mesnine. Vsi emulgatorji, razen fosfatov, se uporabljajo *quantum satis*, optimalno pa delujejo v količinah od 0,3 % do 0,5% (Feiner, 2006; Žlender, 2017).

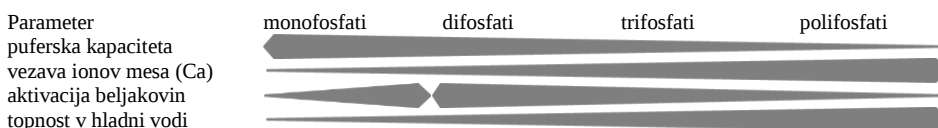
2.3.1 Fosfati (E 338-343, 450-452)

Fosfati so soli fosforne (V) kisline (H_3PO_4). V mesni industriji jih uporabljamo v obliki **fosforjeve (V) kisline (E 338)**, **natrijevih fosfatov (E 339)**, **kalijevih fosfatov (E 340)**, **kalcijevih fosfatov (E 341)**, **magnezijevih fosfatov (E 343)**, **difosfatov (E 450)**, **trifosfatov (E 451) in polifosfatov (E 452)** (Uredba (ES) 1333/2008). Najbolj pogosto

uporabljeni fosfati v mesni industriji sta natrijev trifosfat in difosfat (Katalenić, 2004). Fosfati posredno delujejo kot emulgatorji, z vezavo fosfatov na Ca^{2+} in Mg^{2+} ione (prečni mostički v aktomiozinskem kompleksu) prispevajo k ločevanju aktina in miozina po rigorju, spremenijo (praviloma povečajo) ali/in stabilizirajo vrednost pH, beljakovinam povrnejo sposobnost nabrekanja, saj povečujejo sposobnost vezave vode, izboljšajo teksturo in senzorične lastnosti (mehkobo, sočnost, barvo in aromo) saj pospešujejo razvoj barve mesa med razsoljevanjem, z večanjem topnosti beljakovin skupaj s soljo izboljšajo/stabilizirajo teksturo mesnih izdelkov, prispevajo k povezanosti rezin, preprečujejo oksidacijo lipidov ter posledično nastanek oksidativne žarkosti, zagotavljajo večjo dobit oz. zmanjšajo izgubo mase med toplotno obdelavo, zavirajo rast določenih mikroorganizmov, posledično podaljšajo rok uporabnosti izdelka (Feiner, 2006; Heinz in Hautzinger, 2007; Demšar in Polak, 2010). Dodatno fosfati v mesninah v prehrani določenih potrošnikov predstavljajo vir fosforja. Natrijev fosfat se uporablja tudi kot kelator, ki veže nezaželene kovinske in nekovinske ione v kelatni kompleks, ki tako poveča stabilnost izdelka (Long in sod., 2011). Uporablja se v kombinaciji z zgoščevalci, kot so alginati, karagenan in pektini. Tako mesni izdelki še dodatno zadržijo vodo (Katalenić, 2004). Fosfatne in polifosfatne mešanice niso pravi emulgatorji, pač pa so emulgirne soli, saj v zmesi, ki vsebuje maščobe, vodo in beljakovine, razpršujejo beljakovine tako, da omogočijo homogeno porazdelitev maščobe in drugih sestavin. Med emulgirne soli spadajo soli monofosforne (ortofosforne) kisline, ki se glede na število P atomov v molekuli razvrščajo v ortofosfate (PO_4^{3-}), pirofosfate ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), tripolifosfate ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$), polifosfate $(\text{PO}_3)_{(n+2)}^{-(n+4)}$, metafosfate $(\text{P}_n\text{O}_{3n})^{-n}$, polifosfate $(\text{H}_2\text{P}_n\text{O}_{3n+1})^n$, izometafosfate in mrežaste fosfate (Considine in Considine, 1982; Katalenić, 2004; Marušić in sod., 2013).

Fosfati se lahko dodajo v vse mesnine. Poseben pomen imajo v mesninah z dodano vodo, ki so toplotno obdelane, npr. barjene in kuhane klobase, konzerve, prekajeno meso, prekajena slanina. V barjenih klobasah narejenih na osnovi mesne emulzije so primernejši difosfati, medtem ko so v izdelkih iz integralnih kosov mesa (kuhana šunka, pleče, kare, prekajeno meso) primernejši trifosfati in polifosfati (Žlender, 2017). Najvišja dovoljena vsebnost fosforjeve kisline, izražene kot fosforjev pentoksid (P_2O_5), v mesninah znaša 5 g/kg (Uredba (ES) 1333/2008). Z dodatkom polifosfatov v večjih koncentracijah kot je tehnološko potrebno, se v izdelku poveča vezava vode, s tem pa se spremeni njegova prehranska vrednost in posledično dobimo izdelek slabše kakovosti (Serdar in Katalenić, 2006). V nekatere izdelke, kot je to kranjska klobasa, kmetijski izdelek zaščiten z geografsko oznako (ZGO), dodajanje fosfatov ni dovoljeno. Lušnic Polak in sod. (2016) so dokazali, da je v kranjskih klobasah možno zaznati že dodatek 0,1 g fosfatnega preparata/kg nadeva. Ob tem dodatku so preskuševalci senzorično zaznali večjo jedrost (slabšo sočnost pri dodatku nad 0,2 g/kg), z instrumentalnimi meritvami spremenjeno teksturo, in sicer bistveno povečano trdoto, prožnost, gumijavost, žvečljivost in elastičnost, ter s kemijskimi analizami sum na dodan fosfatni preparat v kranjskih klobasah ZGO dveh od treh testiranih proizvajalcev.

Na sliki 1 so prikazane lastnosti različnih fosfatov, na podlagi katerih se proizvajalci mesnin odločajo, katere oblike ali mešanice fosfatov bodo izbrali za določene izdelke.



Slika 1: Lastnosti različnih fosfatov (Feiner, 2006)

2.4 SREDSTVA ZA URAVNAVANJE KISLOSTI

Sredstva za uravnavanje kislosti so snovi, ki spremenijo ali nadzirajo kislost ali alkalnost živila (Uredba (ES) 1333/2008). Za uravnavanje kislosti se v mesni industriji uporabljajo **acetati (E 261-263), citrati (E 331-333), laktati (E 325-327) in fosfati**. Acetati, citrati in laktati se uporabljajo *quantum satis*. Acetati so hkrati konzervansi (poglavje 2.1), citrati delujejo kot stabilizatorji in sekvestranti ter laktati kot antioksidanti in sinergisti (Žlender, 2017).

2.5 KISLINE

Kisline so snovi, ki povečajo kislost živila (Uredba (ES) 1333/2008). V proizvodnji mesnin so pomembni **glukonodelta lakton (E 575), očetna kislina (E 260), mlečna kislina (E 270) in citronska kislina (E 330)**. Njihova uporaba je *quantum satis*. Očetna in citronska kislina se dodajata v izdelke z želatino (hladetinasti izdelki) zaradi oblikovanja kiselkastega okusa, mlečna kislina se (ponekod) uporablja za površinsko obdelavo trupov zaradi boljše mikrobiološke stabilnosti med hlajenjem. GDL se uporablja v proizvodnji hitro fermentiranih suhih klobas, ki hitreje dozori pri povišani temperaturi brez nevarnosti mikrobiološke kvarjenja. GDL je topen v vodi in preide v D-glukonsko kislino, ki zniža pH nadeva. Na ta način se pospeši konverzija mioglobina v nitrozomioglobin in mikrobiološko se stabilizira nadev za klobase. V nadev se ga lahko doda do 0,5 % (Leroy in De Vuyst, 2009), čeprav zakonodaja njegovega dodatka ne omejuje (Uredba (ES) 1333/2008). Kljub temu je potrebna previdnost zaradi oblikovanja preokislega okusa, ki je za nekatere porabnike moteč. V proizvodnji tradicionalnih počasi fermentiranih suhih klobas (zimska salama, domača klobasa, kulen, madžarska salama) GDL ni primeren zaradi oblikovanja neznačilnega kiselkastega okusa oz. arome in neznačilne teksture (Žlender, 2017).

2.6 STABILIZATORJI, ZGOŠČEVALCI, SREDSTVA ZA ŽELIRANJE

Hidrokoloidi so polisaharidi pridobljeni s postopki ekstrakcije iz morskih alg (alginska kislina E 400, alginati E 401-404, karagenan E 407, predelana morska alga eucheuma E 407a, agar E 406), iz rastlin (guar gumi E 412, tragakant E 413, gumi arabikum E 414, konjak gumi E 425) in s fermentacijo ogljikovih hidratov (ksantan guma E 415). Hidrokoloidi spadajo v skupino stabilizatorjev, sredstev za zgostitev (gostil) in želirnih sredstev. Stabilizatorji so snovi, ki ohranjajo fizikalno-kemijsko stanje živil s tem, da vzdržujejo homogenost disperzije dveh ali več snovi, ki se med seboj ne mešajo. So tudi snovi, ki stabilizirajo in poudarijo obstoječo barvo; sredstva za želiranje pa oblikujejo živilom želatinasto konsistenco (Uredba (ES) 1333/2008). Hidrokoloidi vežejo vodo in se uporabljajo v proizvodnji mesnin, v katere se dodaja več vode ali maščob in s tem zagotavlja stabilnost izdelka med toplotno obdelavo. Hidrokoloidi prav tako stabilizirajo emulzije in vplivajo na boljšo povezanost nadeva ter teksturo, ki olajša narezljivost izdelka in zmanjša možnost sinereze (Lojvec, 2014; Morela, 2017; Pavlović, 2017). Večina hidrokoloidov se uporablja *quantum satis*, razen konjak gume, ki je omejena na 10 g/kg (Žlender, 2017). V mesne pripravke, ki so jim bile sestavine vbrizgane, in v mesne pripravke, sestavljene iz različno obdelanih delov mesa (zmletih, zrezanih ali drugače predelanih), se večina hidrokoloidov (E 400-418) lahko dodaja, izjema so le bifteki, soutzoukaki, kebap, gyros in souvlaki (Uredba (ES) 1333/2008).

Modificirani škrobi (E 1404-1451) so pridobljeni s fizikalnimi in kemijskimi postopki iz užitnih škrobov, s katerimi dosežejo boljše funkcionalne lastnosti, predvsem se poveča sposobnost za vezanje vode. Učinkujejo kot stabilizatorji, emulgatorji in zgoščevalci in

se uporabljajo *quantum satis* v proizvodnji konzerv iz razdetega mesa, barjenih in kuhanih klobas (Žlender, 2017).

2.7 BARVILA

Barvila so snovi, ki se dodajo z namenom, da povrnejo prvotni videz živilu, katerega barva je bila spremenjena pri predelavi, skladiščenju, pakiranju in dostavi, s čimer se je lahko poslabšala vizualna podoba živila, ali da se zagotovi privlačnejša vizualna podoba živila ali da obarvajo živila, ki so drugače brezbarvna (Uredba (ES) 1333/2008). Razsoljene mesnine so atraktivne rožnatordeče barve zaradi barvila **nitrozomioglobina** oz. nitrozomiokromogena. Razni dodatki, npr. beljakovinski preparati in ogljikovi hidrati, lahko v nekaterih izdelkih poslabšajo intenzivnost barve. Za izboljšanje intenzivnosti barve se zato lahko uporabijo nekatera dovoljena naravna barvila. V nekaterih mesnih pripravkih, sušenih salamah, toplotno obdelanih klobasah, terinah in paštetah se lahko dodajajo **karameli** (E 150a-d, po potrebi), barvilo rdeče pese **betalain** (E 162, po potrebi), **ekstrakt paprike** (E 160c, do 10 mg/kg), **kurkumin** (E 100, do 20 mg/kg), **karoteni** (E 160a, do 20 mg/kg) in **karmini** (E 120, do 100 mg/kg). Za nekatere zaščitene izdelke – suhe klobase (chorizo, salchicon) je dovoljen dodatek nekaterih **drugih barvil** v predpisanih koncentracijah (Uredba (ES) 1333/2008).

2.8 OJAČEVALCI AROME

Ojačevalci arome so snovi, ki ojačajo okus in vonj živila. Najbolj pogosto uporabljeni so **glutaminska kislina** (E 620-625), **guanilna kislina** (E 626-629) in **inozinska kislina** (E 630-633), ki so sicer naravne sestavine mesa. V praksi se bolj uporabljajo njihove soli, **mononatrijev glutamat** (E 621) in **ribonukleotidi** (E 634-635). Uporaba ojačevalcev okusa je dovoljena v vseh mesninah v predpisanih koncentracijah (Uredba (ES) 1333/2008). Nekatero opisane komponente prispevajo k t.i. okusu 'umami' (Feiner, 2006; Saltmarsh, 2013).

2.9 PLINI ZA PAKIRANJE

Kisik, ogljikov dioksid in dušik se uporabljajo v različnih razmerjih pri t.i. pakiranju v modificirano atmosfero. **Ogljikov dioksid** (E 290) je konzervans pri pakiranju svežega mesa, zmletga mesa in mesnih pripravkov v koncentraciji do 30 %, pri pakiranju mesnin pa od 60-100 %. **Kisik** (E 948) z mioglobinom tvori oksimioglobin in ohranja stabilno svetlordečo barvo svežega mesa. Uporablja se v koncentraciji do 80 %. Pri pakiranju mesnin se lahko pogosto uporablja tudi **dušik** (E 941) (Žlender, 2017).

2.10 PRAŠKI ZA POVRŠINSKO OBDELAVO KLOBAS

V proizvodnji nekaterih tipov suhih salam (zimska, milanska), ki so obrasle s plesnijo, se le-ta mehansko odstrani z zrelega izdelka in se pred pakiranjem nanese plast belega praška, ki oponaša plesen, sestavljenega iz **talka** (E 553b), glicerina in škroba. Izdelek je zaradi vabljivega videza primeren za trženje (Žlender, 2017).

3 DRUGI DODATKI

Med druge dodatke, ki se uporabljajo v predelavi mesa, a po Uredbi (ES) 1333/2008 ne spadajo med aditive za živila, sodijo še voda, kuhinjska sol, ogljikovi hidrati in sladkorji, beljakovine, arome, encimi in encimski preparati. **Voda** ima nalogo izboljšati funkcionalne (tehnološke) lastnosti mase nadeva, je topilo za aditive in izboljša njihovo razporeditev v nadevu, ima senzorični učinek, vpliva predvsem na teksturo mesnin.

Najpogostejša dodatna sestavina v mesni industriji je **sol** (natrijev klorid). Deluje kot ojačevalec arome, izdelkom daje zaželen slan okus, izboljša tehnološke lastnosti nadeva (poveča sposobnost za vezanje vode, izboljša emulgivno in povezovalno sposobnost miofibrilarnih beljakovin), deluje kot oksidant in konzervans (v velikih koncentracijah) (Demšar in Polak, 2010). Po poreklu in načinu pridobivanja poznamo več vrst soli, ki se uporabljajo v predelavi mesa. Morska sol je pridobljena z izparevanjem morske vode v solinah. Rafinirana morska sol je visoko prečiščena morska sol. Evaporirana sol je pridobljena z industrijskim izparevanjem in kristalizacijo slane vode. Kamena sol je pridobljena s predelavo slane rude (Demšar in Polak, 2010; Žlender, 2017).

Ogljikovi hidrati in sladkorji. V proizvodnji mesnin se najpogosteje uporabljajo dekstroza, saharoza, laktoza, škrobni dekstrini, škrob, inulin in prehranska vlaknina (Feiner, 2006). **Škrob** (krompirja, pšenice, koruze ...) oblikuje čvrste gele, stabilne pri visoki temperaturi. Med segrevanjem najprej nabreka in nato prehaja v topno obliko škrobnega kleja. V procesu zaklejitve škrob veže veliko vode in učinkuje kot zgoščevalo oziroma stabilizira nadev mesnine. **Sladkorji** (monosaharidi in disaharidi) se dodajajo v koncentraciji od 5 do 40 mg/kg (Heinz in Hautzinger, 2007; Žlender, 2017). Imajo nalogo prikritja (maskiranja) slane okusa, izboljšajo armo izdelka, znižajo pH nadeva in stabilizirajo barvo razsoljenega mesa. Nastanek mlečne kisline namreč zavira rast patogenov in kvarljivcev ter pripomore k razvoju tipičnih senzoričnih lastnosti fermentiranih klobas (Paramithiotis in sod., 2010). **Prebiotiki** inulin, oligofruktoza in prehranske vlaknine se dodajajo v mesnine s posebnimi prehranskimi in funkcionalnimi lastnostmi, imenovane tudi funkcionalna živila, ki naj bi imela pozitiven učinek na zdravje. **Prehranske vlaknine** so ogljikovi hidrati rastlinskega izvora, ki se ne prebavijo v organizmu (Žlender, 2017).

Beljakovinski dodatki. V toplotno obdelanih mesninah se kot dodatki uporabljajo različni beljakovinski izdelki iz krvi (krvna plazma), mleka (Na-kazeinat), soje, kvasa in jajc, prav tako tudi drugi izdelki živalskega (želatina) in rastlinskega izvora (soja, grah) (Demšar in Polak, 2010; Allais, 2010). Funkcije beljakovinskih dodatkov v mesninah so številne: delujejo kot sredstva za vezanje in zgoščevanje, emulgatorji, izboljševalci teksture in arome ter obogatijo beljakovinsko sestavo mesnin. **Mlečne beljakovine** se v proizvodnji barjenih klobas in sekljanin uporabljajo v obliki brezmasnega dehidriranega mleka, mleka z manj kalcija, dehidrirane sirotke, pinjenca, kazeinativ ipd. (Žlender, 2017). **Kazeinat** (natrijev, kalijev in kalcijev) je zelo dober emulgator. Med toplotno obdelavo koagulira in oblikuje stabilen gel, v katerem ostanejo vezani voda, maščobe in njihove emulzije (Paramithiotis in sod., 2010). Kazeinat se uporablja tudi v proizvodnji steriliziranih mesnih izdelkov, nobena druga mlečna beljakovina ni bolj primerna. Dodaja se ga v koncentracijah med 10 in 20 g/kg, pri čemer prevelik dodatek med sterilizacijo lahko povzroči pojav rjave barve. Pri izdelavi nadeva za hrenovke je kazeinat potrebno dodati po dodatku fosfatov, vode in soli, vendar pred maščobo. Razlog je v tem, da se morajo mišične beljakovine aktivirati preden se dodajo druge beljakovine. Iz kazeinata, maščobe in vode v razmerju 1:7:7 se izdelujejo mastne emulzije, v tej obliki se dodajajo v manj kakovostne izdelke iz svinjine in govedine. Kazein se dodaja tudi v sušene salame, v katerih prispeva k tipični aromi salam, slabost pa je relativno visoka cena kazeina. Zelo primerne so tudi **beljakovine sirotke**, aroma in barva tega dodatka se zelo lepo ujemata s perutninskim mesom. Beljakovine sirotke tvorijo gele odvisno od vrednosti pH in vsebnosti soli v izdelku. Beljakovine sirotke so dobro topne in hkrati manj viskozne, zato se uporabljajo tudi v razsolicah. Po eni strani relativno slabo vežejo vodo, po drugi strani pa tvorijo zelo dobre gele. Poleg tega pa je zanje značilna velika stabilnost pri različnih vrednosti pH (Feiner, 2006). **Sojine beljakovine** se v proizvodnji mesnin dodajo kot sojina moka (45-50 % beljakovin), sojini koncentrati

(60-65 % beljakovin) in sojini izolati (nad 90 % beljakovin) ter teksturirane sojine beljakovine (»mesni analogi«). Uporabljajo se v proizvodnji konzerv, barjenih in kuhanih klobas. Vloga sojinih beljakovin je: izjemno dobro emulgiranje, relativno dobro vezanje vode, rahljanje, povezovanje in nadomeščanje/zamenjava mesa. Težave pri uporabi neustreznega sojinega izdelka ali prevelikega dodatka so rahlo rumenkasta barva, spremenjena tekstura in leguminozen (po fižolu) priokus končnega izdelka (Endres, 2001; Hoogenkamp, 2005; Feiner, 2006; Žlender, 2017). **Želatina** je topen peptid, pridobljen s predelavo živalskih tkiv bogatih s kolagenom. Želatina se topi v topli vodi, absorbira 5-10 kratno količino svoje mase in ohlajena oblikuje čvrsti gel. Trdnost gela je odvisna od vsebnosti želatine, pH vrednosti, prisotnosti soli, sladkorjev in drugih dejavnikov. Sladkorji povečajo, sol pa zmanjša čvrstost gela. Izoelektrična točka želatine pridobljene s kislim postopkom je pri vrednosti pH med 8 in 9, zato so geli v kislem ali slabo kislem okolju bolj čvrste konzistence (Žlender, 2017). **Beljakovine beljaka** se uporabljajo v proizvodnji barjenih klobas (1-3 g/kg) in prispevajo k dobremu vezanju vode, tvorijo stabilne in toplotno ireverzibilne gele, ki pozitivno prispevajo k trdoti, teksturi 'low-cost' emulgiranih mesnin (Feiner, 2006; Žlender, 2017).

Encimi in encimski preparati so biološko aktivne beljakovine, ki katalizirajo in pospešijo biokemijske reakcije. Encimske preparate pridobijo iz živalskih, rastlinskih ter mikrobioloških virov in ponavadi vsebujejo enega ali več encimov. V uporabi so tekoči, poltekoči (koncentrirani), prašnati izdelki, lahko tudi kot imobilizirani encimski preparati. Encimi rastlinskega (papain, ficin, bromelin), živalskega (kolagenaza) ali mikrobiološkega izvora se uporabljajo za mehčanje mesa (Žlender, 2017). Encimi transglutaminaze katalizirajo razgradnjo vezi med aminokislinami v mesu (predvsem glutamina in lizina) ter povezujejo molekule beljakovin tako, da med njimi tvorijo prečne vezi, predvsem kovalentne vezi med prej omenjenima aminokislinama. Kovalentne vezi so močnejše kot vodikove vezi in se ne cepijo med toplotno obdelavo ali pod mehanskimi pritiski. Aktivnost encima ni odvisna od prisotnosti kalcija, stabilen je pri pH med 5 in 8 (optimum med 6 in 7), optimalna temperatura pa je 55 °C. Uporabljajo se v proizvodnji kuhanih šunk in klobas, povečajo pa čvrstost, grznost in teksturo izdelkov. Encimi se lahko dodajajo v razsolico pri izdelavi šunk ali pa direktno v kuter med prvo fazo razdevanja izdelave klobas. Lahko pa se uporablja tudi pri izdelavi reformuliranih mesnin, ko še posebej sinergistično deluje s kazeinatom (drugi aditivi, kot so fosfati, niso potrebni za vezavo) (Jiménez-Colmenero in sod., 2005; Feiner, 2006).

4 ADITIVI, RAZLIČNI MESNI IZDELKI IN PRIPRAVKI

4.1 BARJENE KLOBASE

Kot barjene klobase se po Pravilniku o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov (2017, v pripravi) lahko označijo mesni izdelki, proizvedeni iz mesne emulzije in drugih sestavin živalskega izvora, soli, aditivov, začimb, začimbnihih ekstraktov, arom, vode, ledu, tehnoloških dodatkov ter dodatnih sestavin, polnjeni v naravne ali umetne ovitke. Barjene klobase so toplotno obdelane z ali brez dimljenja. Tradicionalna poimenovanja za barjene klobase so npr. hrenovka, posebna klobasa ali posebna in pariška klobasa ali pariška. V nadaljevanju so opisani najpomembnejši aditivi in dodatne sestavine v proizvodnji barjenih klobas, povzeti po Feinerju (2006).

Fosfati so najučinkovitejši aditiv za raztapljanje mišičnih beljakovin (Puolanne in sod., 2001; Young sod., 2005) in se jih na kg nadeva dodaja običajno med 3 g in 5 g. Pod pojmom nadev razumemo pusto meso, maščobno tkivo, vodo ali led, druge emulzije kot

tudi vse aditive in veziva. V večini držav lahko kilogram izdelka vsebuje 0,5 % ali 5 g fosfatov, izraženih kot fosforjev pentoksid (P_2O_5), kar predstavlja okoli 8 g dodanega fosfata na kilogram nadeva. Tako velik dodatek fosfatov s tehnološkega vidika ni opravičljiv, absolutna mejna vrednost s tehnološkega vidika je 6 g fosfatov/kg izdelka. Danes so na tržišču za izdelavo mesnih izdelkov na osnovi mesne emulzije na voljo različne mešanice fosfatov, ki vsebujejo predvsem difosfate, sposobne hitre aktivacije beljakovin med razdevanjem ali mešanjem in emulgiranjem. Ta lastnost je zelo pomembna, ker se emulzija tvori v okoli 7-12 minutah, pri tem pa se morajo beljakovine najprej aktivirati, da potem v nadaljevanju postopka lahko emulgirajo maščobo in vodo. Zato se fosfati vedno dodajo na začetku razdevanja mesa (Feiner, 2006).

Sol (natrijev klorid) s fosfati deluje sinergistično. Tudi sol dodamo na začetku razdevanja mesa. Količina soli v barjenih klobasah je zelo različna, vendar mora biti nad 12 g/kg nadeva, da bi učinkovito aktivirala beljakovine. S tehnološkega vidika se optimalno raztapljanje beljakovin pojavi pri 5 % dodane soli, vendar take količine dodane soli niso sprejemljive s senzoričnega vidika. Večina barjenih klobas vsebuje med 14 in 18 g soli/kg nadeva, odvisno od lokalnih prehranjevalnih navad potrošnikov. Zakonodaja ne omejuje količine dodane soli v mesnih izdelkih, izjema so le izdelki s prehransko trditvijo 'nizka vsebnost natrija'. Namesto natrijevega klorida se v take izdelke za pravilno aktivacijo mišičnih beljakovin dodaja **kalijev klorid**. Problem kalijevega klorida je, da večina ljudi pri dodatku 3-4 g kalijevega klorida/kg izdelka že zazna grenak priokus. V večini mesnin z nizko vsebnostjo natrija se, odvisno od zakonodaje posameznih držav, lahko uporablja natrijev klorid le v relativno majhnih količinah, 2-3 g/kg izdelka, ker se v omenjene izdelke natrij dodaja tudi z natrijevimi solmi fosfatov, nitritov, askorbatov ali eritorbatov. V primeru, da se na kg nadeva doda 4 g kalijevega klorida in 3 g natrijevega klorida, je v izdelku prisotnih 7 do 8 g soli, kar pa je premalo za učinkovito aktivacijo beljakovin mesa, tako bi bilo za doseganje skupne koncentracije soli (12 g/kg) potrebno poleg natrijevega klorida dodati 8-12 g kalijevega klorida. Možen grenak priokus zaradi tako velikih količin dodanega kalijevega klorida v končnem izdelku se lahko v veliki meri prikrije/maskira z dodatkom sladkorja in dodatnih začimb. Sol dodajamo skupaj s fosfati na začetku procesa razdevanja, kajti sol poveča ionsko moč na največjo raven in pospeši raztapljanje mišičnih beljakovin. Beljakovini, topni v raztopini soli, kot sta aktin in miozin, imata boljšo sposobnost emulgiranja kot v vodi topne beljakovine, predvsem zaradi svojih hidrofilnih in lipofilnih skupin. Miozin predvsem emulgira maščobo, medtem ko aktiviran aktin močno veže (imobilizira) vodo. Topna miozin in aktin boljše delujeta v sinergiji kot posamično. Denaturiran gel iz topnega aktina in miozina tvori tridimenzionalno mrežo (matriks) tako, da drobno razdete kapljice maščobe postanejo prekrivane s plastjo beljakovin. Ta beljakovinski sloj tudi preprečuje združevanje kapljic maščobe med toplotno obdelavo in ločevanje maščobe v izdelku (Feiner, 2006).

Voda ali **led** ne sodita med aditive, vendar izpolnjujeta različne pomembne tehnološke funkcije v proizvodnji barjenih klobas. Voda je potrebna za aktivacijo ali raztapljanje mišičnih beljakovin. Brez vode se mišične beljakovine le malo ali sploh ne aktivirajo, za čvrsto strukturo izdelka pa so nujno potrebni visoka stopnja aktivacije beljakovin, pravilna vezava dodane vode in emulgiranje dodane maščobe. Led se običajno uporablja za preprečevanje posledic segrevanja mase, ki nastane zaradi velikih reznih in strižnih sil, ki jih povzročajo noži pri razdevanju in homogeniziranju v posodi kutra. Med razdevanjem (hitrost nožev 3000-5000 obr./min) lahko temperatura ponekod ob nožih doseže tudi 120 °C. Brez dodanega ledu bi se temperatura mase zelo hitro povečala, skrajšal bi se čas razdevanja in zmanjšala verjetnost, da bo pridobljena emulzija homogena, brez vidnih maščobnih delcev in z največjo količino aktiviranih beljakovin.

Dodana voda povečuje tudi sočnost izdelkov in je še vedno (v večini držav) najcenejša surovina. Kljub standardizaciji postopka za razdevanje nadeva vplivajo različne temperature ledu močno na kakovost končnega izdelka. V primeru, da standardiziran postopek izdelave temelji na določeni končni temperaturi mesne emulzije, led z nižjo temperaturo podaljša čas razdevanja in obratno. Po drugi strani pa ima voda pri temperaturi 0 °C bistveno manjšo hladilno kapaciteto kot led pri 0 °C (Feiner, 2006).

Včasih se namesto fosfatov v nadeve za barjene klobase dodajajo nekatere **sol** **karboksilnih kislin**, npr. **citrat**. Te soli zaradi visoke ionske jakosti povečajo nabrekanje fibrozne strukture, vendar pa ne odstranjujejo povezav med aktinom in miozinom ali pa ju ne raztopijo, kot to učinkovito naredi mešanica fosfatov in soli. Citrat (3-5 g/kg nadeva) je najbolj učinkovit ob dodatku 2 g fosfatov in 20 g soli/kg nadeva, ko se beljakovine aktivirajo petkrat bolje kot ob dodatku 5 g citrata in 20 g soli/kg nadeva. Barjene klobase, proizvedene s solmi omenjenih kislin, primernih za prehrano (**food-grade acids**), so na splošno neatraktivnega videza, izdelki zaradi manjše količine raztopljenih beljakovin običajno niso grizni, čvrsti in pravilne strukture. Prav tako je pri toplotni obdelavi nadeva takih klobas povečana nevarnost ločevanja vodne in maščobne faze. Barva izdelkov se oblikuje zelo hitro, zato se priporoča uporaba **nitrita** in ne nitrata. Glede na dovoljen največji ostanek nitrita v končnem izdelku, ki je različen za različne države, se na kg nadeva doda med 150 in 300 ppm nitrita. Približno okoli 50-60 % dodanega nitrita se porabi za oblikovanje barve in arome, do 30 % se ga oksidira v nitrat, precej velika količina pa se enostavno izgubi, za katero trenutno ni ustreznega pojasnila. Manj nitrita ostane v izdelkih z velikim premerom, ker je tam čas toplotne obdelave daljši v primerjavi z izdelki manjšega premera. Nekatere barjene (pasterizirane) klobase se lahko proizvedejo tudi brez dodanega nitrita. V take izdelke zato dodajajo začimbe, ki vsebujejo nitrat, in starterske kulture, kot so bakterije *Staph. carnosus*, ki nitrat lahko reducirajo v nitrit. V ovitek napolnjen izdelek se nato pred končno toplotno obdelavo temperira 1-1,5 ure pri temperaturi 45-50 °C, da se omogoči redukcija nitrata v nitrit, da se tvori dušikov oksid ter da se NO učinkovito veže na miooglobin in tvori nitrozomiooglobin (Feiner, 2006).

Za pospešitev razvoja in stabilizacijo rožnate barve (barva razsoljenega mesa) barjenih klobas se uporabljajo tudi **stabilizatorji barve**, kot so askorbinska kislina, askorbat, eritorbat in glukonodelta lakton. Dodatek stabilizatorjev barve je smiseln le, če se uporablja nitrit in ne nitrat. Prevelik dodatek askorbinske kisline (nad 0,6 g/kg skupne mase) in askorbata ali eritorbata (nad 0,7 g/kg skupne mase) lahko povzroči, da se izdelek obarva zeleno. **Askorbinska kislina** se v barjenih klobasah najpogosteje uporablja kot stabilizator barve, saj pospeši tvorbo NO, potrebnega za tvorbo nitrozomioglobina. Prav tako neposredno reducira ostanek nitrita v NO in s tem stabilizira barvo v končnem izdelku. **Askorbat ali eritorbat** se pri dodatku v nadev za barjene klobase pretvorita v askorbinsko ali eritorbinsko kislino in delujeta kot stabilizatorja barve. Paziti je treba, da askorbinska kislina ne pride v neposreden stik z nitritom, saj v trenutku reagirata med seboj. Posledično imajo taki izdelki zelo slabo (lahko tudi sivo) in nestabilno barvo ter skrajšan rok uporabnosti. Pogosto se uporabljajo pripravljene **mešanice**, ki vsebujejo fosfate, askorbinsko kislino, sladkor in začimbe. Med razdevanjem se mešanice dodajo prve, sol in nitrit se dodata kasneje. Askorbat in eritorbat se lahko dodata v mešanici z nitritom, vendar se razsoljena barva počasneje razvije. Kadar se uporabljajo posamezni aditivi, je treba preprečiti mešanje nitrita s sestavinami, kot so askorbinska kislina, glukonodelta lakton ali citronska kislina, saj je že vlaga v zraku dovolj, da nitrit reagira s temi sestavinami (Feiner, 2006).

Pri izdelavi barjenih klobase se pogosto uporabljajo tudi **barvila**. Vrsta uporabljenega barvila je odvisna predvsem od pričakovanj potrošnikov. **Oleorezin paprike** (E 160c) se v barjenih izdelkih ne uporablja, saj izdelkom daje 'umetno' oranžno barvo. Najpogostejše se uporablja **karmin** (E 120), možnosti so še rdeče **vino v prahu** in **barvilo rdeče pese** (betanin, E 162). **Kombinacija** askorbinske kisline z barvili, kot je karmin, izdelkom da hitro, močno in stabilno barvo po razsoljenem. Barvila je potrebno dodati takoj na začetku razdevanja, da se zagotovi čim enakomernejša porazdelitev. Tudi **kri** se lahko doda v barjene klobase, s tem se na naraven način zagotovi boljša barva, vendar je treba še posebej paziti na mikrobiološko kontaminacijo krvi (Feiner, 2006).

V nadeve barjenih klobas se pogosto dodajo različne vrste **sladkorja** (5-15 g/kg nadeva). Dodani sladkorji zaokrožujejo okus in prikrijejo slanost. Aroma **laktose** se lepo ujema z mesno armo; **koruzni sirup** (z vrednostjo dekstroznega ekvivalenta okoli 15-25) pa se dodaja v barjene izdelke, kot so klobase hot dog, predvsem kot sredstvo za povečanje prostornine (in suhe snovi) (Feiner, 2006).

V mesnine se pogosto dodajajo razne **beljakovine**. **Sojine beljakovine**, bodisi izolat ali koncentrat, prispevajo k teksturi, ugrizu in čvrstosti, izolati pa tudi učinkovito emulgirajo maščobe. Visoko-želirajoče sojine beljakovine je potrebno pred dodatkom mesa in maščobe najprej hidrirati in razdeti v kutru. Specifične nizko in srednje želirajoče sojine beljakovine lahko dodamo hkrati z mesom in maščobo, brez predhodne hidracije in so primerni za sisteme postopke, kjer se vsi aditivi dodajo v mešalnik k mesu in maščobi. V barjene klobase se lahko doda od 1 % do 14 % sojinih beljakovin. V primeru velikega dodatka sojinih beljakovin se v klobasah lahko poveča vrednost pH in s tem tudi sposobnost za vezanje vode. Pogosto se jih v tovrstne izdelke dodaja kot nadomestke cenejših ali bolj mastnih sestavin. Po drugi strani pa se stroški izdelave barjenih klobas lahko zmanjšajo, če se del pustega mesa nadomesti z mešanico sojinih izolatov in vode v razmerju 1:3. Sojini izolati v povprečju vsebujejo okoli 90-92 % beljakovin, v recepturah 1 kg sojinega izolata in 3 kg vode lahko nadomestita 4 kg pustega mesa. Zamenjava pustega mesa s sojinimi beljakovinami in vodo vsekakor vpliva na teksturo, čvrstost, armo in ugriz, kajti mesne beljakovine zelo pozitivno vplivajo na omenjene lastnosti. V kolikšni meri se pusto meso nadomesti s sojinimi beljakovinami, je v veliki meri odvisno od želene cene izdelka. Sojini koncentradi so primerni za izdelavo mesnin na osnovi mesne emulzije, ker poleg sojinih beljakovin tudi netopna vlaknina zelo dobro deluje vzajemno z raztopljenimi beljakovinami mesa, opazni so sinergistični učinki. **Zamrznjena krvna plazma** je naslednja sestavina, ki se dodaja v nadeve za barjene klobase zaradi svoje odlične sposobnosti za vezanje vode; hkrati z vodo/ledom se je doda največ 2 %. Krvna plazma še učinkoviteje veže dodano vodo kot mesne beljakovine, zaradi svoje vrednosti pH okoli 7,3-7,5 poveča vrednost pH nadeva in posledično tudi sposobnost za vezanje vode. V mesninah z dodano krvno plazmo je med toplotno obdelavo obvezno potrebno doseči središčno temperaturo 72 °C, ker plazma le pri teh temperaturah tvori čvrst gel. Krvno plazmo je potrebno prišteti k skupni vsebnosti vode v klobasah, saj vsebuje predvsem vodo, in je zato v recepturi potrebno zmanjšati/prilagoditi količino dodane vode ali ledu. Zamrznjeno, svežo ali sušeno (3-6 g/kg) krvno plazmo se v maso za klobase dodaja v začetni fazi razdevanja (Feiner, 2006).

V barjene klobase se glede na želeno armo končnega izdelka dodajajo različne **začimbe, začimbeni ekstrakti, zelišča in hidrolizirane rastlinske beljakovine**. Začimbe se lahko dodajo do 3-5 g/kg izdelka, arome (odvisno od ekstrakta ali pa oleorezinov) pa v veliko manjših koncentracijah. Najpogostejše uporabljene začimbe so muškati orešček, ingver, beli poper, muškato cvet, čebula v prahu, cimet in česen. Temno obarvane začimbe se ne uporabljajo, ker so lahko vidne v končnem izdelku.

Zaradi prijetnejše arome se k nedimljenim barjenim klobasam lahko dodajata tudi tekoči dim ali dim v prahu. Tekoči dim se dodaja na koncu procesa emulgiranja nadeva, saj v nasprotnem primeru kisline v tekočem dimu (fenoli) motijo aktiviranje beljakovin (Feiner, 2006).

Od stabilizatorjev, zgoščevalcev in sredstev za želiranje se v proizvodnji barjenih klobas pogosto uporabljajo hidrokoloidi in škrobi. Danes se **karagenan** (1-3 g/kg nadeva) skoraj vedno uporablja pri izdelavi barjenih klobas, ki v recepturi vsebujejo veliko količino vode in malo mesa, karagenan pa zaradi svoje sposobnosti veže ogromne količine vode in na ta način zmanjšuje izcejo v pakiranih izdelkih. Občasno se v ta namen uporabljajo tudi nekatere druge **gume**, ki hladno nabrekajo, npr. guar guma. Zelo pogosto se uporablja tudi **škrob** (20-100 g/kg nadeva), predvsem zaradi sposobnosti vezanja vode. Prispevka k trdnosti in teksturi izdelka, zlasti klobas z majhno vsebnostjo mesa. Škrob sinergistično deluje z aktiviranimi mesnimi beljakovinami. Kljub različnemu tehnološkemu obnašanju različnih vrst škroba je ob pravilni uporabi dodatek škrobov še vedno najbolj ekonomsko upravičen. Zmanjša namreč tveganje za izločanje vode med toplotno obdelavo kot tudi izcejo v narezanih vakuumsko pakiranih izdelkih. Druga ogljikohidratna polnila, kot so prepečenec, moka in žitna veziva, se uporabljajo v barjenih klobasah (20-100 g/kg nadeva) predvsem zaradi njihove sposobnosti za vezanje vode in ekonomičnosti uporabe (Feiner, 2006). Vlaknine rženih otrobov, graha, orehov, koruze in sezama so nove dodatne sestavine, ki se uporabljajo za izdelavo mesnin z zmanjšano vsebnostjo maščob (Tahmasebi in sod., 2016; Kehlet in sod., 2017).

Laktat se v barjenih izdelkih uporablja za podaljšanje roka obstojnosti in se v klobase dodaja v začetni fazi razdevanja, potem ko je bila dodana sol in vsa voda oz. led. V nekaterih državah, kot so ZDA, skoraj vse barjene klobase vsebujejo laktat, predvsem zaradi mikrobiološke varnosti. Mešanica laktata in (di)acetata kontrolira rast bakterij vrste *Listeria monocytogenes*, kar je pomembno v državah, v katerih se odpoklic izdelkov opravlja prav na podlagi večje kontaminacije z omenjenimi bakterijami. Laktat lahko dodamo do približno 30 g/kg nadeva, oz. 25 g/kg nadeva, kadar se dodaja v obliki mešanice laktat-acetat. V primeru, da se laktat dodaja v nadev, ga je potrebno dodati potem, ko je bila dodana in dobro vezana že vsa voda ali led, vendar obvezno v prvi polovici procesa razdevanja. Zgoden dodatek laktata poveča ionsko jakost in aktivira več beljakovin, zelo pozen dodatek pa njegov vpliv na ionsko moč zelo zmanjša, ker so v emulziji prisotne tudi maščobe, škrob ali druge sestavine. Poleg tega pa je laktat sposoben vezati tudi določeno količino vode (do 60 % lastne mase), s tem pa nekoliko prispeva k povezanosti v končnem izdelku (Feiner, 2006).

Emulgatorji se v barjenih klobasah redko uporabljajo, saj so uspešni le v pravih emulzijah, kjer so maščobe in voda prisotni v tekoči obliki, t.j. v primeru barjenih klobas, v katerih se kot vir maščobe uporabljajo olja. Lahko se uporabi dodatek monogliceridov in/ali digliceridov do 3 g/kg nadeva. V proizvodnji barjenih klobas se pogosto uporabljajo tudi **ojačevalci arome**, mononatrijev glutamat ali ribonukleotidi (Feiner, 2006).

4.2 JETRNA PAŠTETA

Kot pašteta se po Pravilniku o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov (2017, v pripravi) lahko poimenuje mesni izdelek, ki je izdelan iz mesa, slanine ali druge maščobe živalskega ali rastlinskega izvora, bujona ali vode, drobovine (jeter), kožic, dodatnih sestavin, aditivov, začimb in tehnoloških dodatkov. Stopnja razdetosti nadeva

je fina in homogena. Pri navajanju imena jetrna pašteta mora biti vsebnost jeter v končnem mesnem izdelku najmanj 15 %.

V jetrne paštete se lahko dodaja zelo različne aditive v zelo različnih količinah. Seveda se vedno dodaja **sol** (12-18 g/kg) zaradi vpliva na okus in aromo izdelka. Beljakovine jeter so vodotopne in ne potrebujejo soli za aktivacijo oz. raztapljanje. Prav tako miofibrilarne beljakovine (miozin in aktin) v kuhanem mesu niso več funkcionalne; tako se jetrne paštete lahko proizvajajo brez dodatka katerekoli soli. Čeprav je proizvodnja jetrnih paštet z manj ali brez soli neproblematična, pa izdelek ni sprejemljiv s senzoričnega vidika (Feiner, 2006).

Nitrit se v jetrno pašteto dodaja predvsem zaradi barve in arome po razsoljenem. Nekoliko podaljša rok obstojnosti, zato bi se ga v tovrstne izdelke moralo dodajati v največjih dovoljenih količinah. Vendar pa se njegov vpliv na podaljšanje obstojnosti ne sme preceniti, bolj je važna pravilna toplotna obdelava med pasterizacijo in pravilno skladiščenje. Jetrno tkivo vsebuje veliko hemoglobina, ki se v prisotnosti NO pretvori v nitrozohemoglobin in tako vpliva na barvo končnega izdelka. Za hitrejši in učinkovitejši razvoj razsoljene barve se v tovrstne izdelke dodajajo **askorbinska kislina ali eritorbat** (0,5-0,7 g/kg nadeva) (Feiner, 2006).

Začimbe se dodajajo po okusu. Včasih se dodajata tudi vino porto ali brandi. Tradicionalne jetrne paštete so običajno narejene brez nitrita, včasih pa se kontaminirajo z začimbami, kot je majaron, ki vsebuje nitrato. **Nitrat** lahko preide v tovrstne izdelke tudi z vodo, tako da se zaradi delne redukcije nitrata v nitrit v izdelkih oblikuje nitrozohemoglobin ali nitrozohemoglobin (Feiner, 2006).

V jetrne paštete **fosfatov** ni potrebno dodati, ker se vse mišične beljakovine v mesu denaturirajo že pri prvem kuhanju (predpripravi surovin), preden se emulzija v pašeti sploh oblikuje. Za preprečevanje separacije/ločitve maščobe iz nadeva med toplotno obdelavo se v jetrne paštete pogosto dodajajo **emulgatorji**, kot so **monogliceridi** in **digliceridi (estri glicerola in maščobnih kislin)**. Monogliceridi so bolj hidrofilni kot digliceridi. Ti emulgatorji pa ne tvorijo tridimenzionalne mreže, kot jo tvorijo topne beljakovine jeter. Lahko se uporabi dodatek emulgatorja 3-5 g/kg nadeva. Druge sestavine, kot so sladkorji, se dodajajo skupaj z emulgatorjem. Naravni emulgatorji, kot so kazeinat, beljakovine jajc in krvna plazma, stabilizirajo emulzije, ker imajo aminokisline tako s hidrofilnimi kot tudi s hidrofobnimi stranskimi verigami. Vendar pa samo **beljakovine jajc** tvorijo matriks kot beljakovine jeter. **Kazeinat** pa v nasprotju z drugimi emulgatorji prekrije kapljice maščobe in jih trdno učvrsti med toplotno obdelavo. Snovi, kot je natrijev kazeinat, so dovoljene v steriliziranih jetrnih paštetah, ker je sposobnost natrijevega kazeinata, da emulgira in stabilizira maščobo pri povišanih temperaturah, še ojačana. Druge **beljakovine**, kot so **sojine**, se prav tako lahko uporabljajo kot emulgatorji v jetrnih paštetah. **Beljakovine jeter** imajo veliko število visoko hidrofilnih skupin in so odlični emulgator v maščoba-voda emulzijah. Kadar je v jetrnih paštetah maščobne faze v primerjavi z vodno veliko, se v izdelku poveča nevarnost separacije maščobe. V izdelkih z malo maščobe in veliko vode (izdelki z manj maščobe) se med toplotno obdelavo pojavi nevarnost izločanja vode. **Mleko ali smetana** se pogosto dodajata v jetrne paštete, da povečata gladkost in zaradi okusa. Lahko se dodajo **sladkorji**, kot sta saharoza in glukoza, do 5 g/kg nadeva, da prikrijejo slan okus. V fino zmlete paštete se dodaja **vanilija**, ker daje izdelkom prijeten slahek okus. Dodajajo se tudi **škrobi**, vendar med pasterizacijo ne preprečijo razpada nestabilne emulzije. Razlog je v pomanjkanju ustreznega razmerja med lipofilnimi in hidrofilnimi skupinami v molekuli. Škrob pa med pasterizacijo (želiranje škroba) lahko veže vodo,

kar le nekoliko izboljša stabilnost emulzije (Pavlović, 2017). **Želatina** se dodaja za izboljšanje gladkosti izdelka in za podporo vezave vode v emulziji med toplotno obdelavo (Feiner, 2006).

4.3 KONZERVIRANO MESO

Kot konzervirano meso se po Pravilniku o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov (2017, v pripravi) lahko poimenujejo mesni izdelki iz celih (integralnih) kosov mesa brez kosti, s pripadajočo kožo in podkožnim maščobnim tkivom ali brez njih, iz zrezanega mesa, mastnega maščobnega tkiva, kože, drobovine, dodatnimi sestavinami, soljo, začimbami, začimbni ekstrakti, aromami, aditivi in tehnološkimi dodatki. Meso je razsoljeno, gneteno in masirano, lahko je tudi zmerno hladno ali toplo dimljeno. Mesni izdelki so toplotno obdelani (pasterizirani) z vlažnimi ali suhimi postopki v posebnih kalupih (ter po toplotni obdelavi prepakirani) ali pa direktno v hermetično zaprti embalaži ali ovitkih.

Aditivi, ki se uporabljajo pri izdelavi konzerviranega mesa, se izbirajo na podlagi želene stopnje injektiranja in dobita po toplotni obdelavi. Običajno se uporabljajo **fosfati in sol**, ki aktivirajo beljakovine v pustem mišičnem tkivu. Na zahtevo kupcev se včasih izdelujejo tudi izdelki brez dodanih fosfatov. Za večjo dobit po toplotni obdelavi se uporabljajo: **citrat** (povečanje ionske moči in večje nabrekanje beljakovin, vendar ne poveča topnosti beljakovin), **karbonati** (zvišajo vrednost pH in s tem prispevajo k povečanju sposobnosti mesa za vezanje vode), **karagenan**, **škrob in beljakovine** (Feiner, 2006).

Najboljšo povezanost rezine, ugriz in teksturo v končnem izdelku najlažje dosežemo z **aktiviranimi beljakovinami**. S tehnološkega vidika so šunke brez dodanih fosfatov nekoliko nesmiselne, saj v tem izdelku ni izkoriščen najpomembnejši del pustega mesa, najdražje beljakovine niso učinkovito uporabljene. Meso kot surovina vsebuje fosfate, zato je izraz 'brez dodanih fosfatov' pravilnejši kot 'brez fosfatov'. **Fosfati ali mešanice fosfatov**, ki se uporabljajo za izdelavo tovrstnih izdelkov se morajo dobro, hitro in popolno raztopiti v hladni vodi (Feiner, 2006; Alvarado in McKee, 2007). Uporabljajo se predvsem mešanice dolgotrajnih fosfatov zaradi njihove dobre topnosti v hladni vodi, občasno pa se uporabljajo tudi krajše-verižni fosfati, kot je tetranatrijev pirofosfat, ki zelo hitro deluje na beljakovine. V večini držav je dovoljeno dodajati 0,5 % ali 5 g fosfatov izraženih kot P_2O_5 . 0,5 % P_2O_5 ustreza 8-9 g dodanih fosfatov v končnem izdelku, vendar take količine dodanih fosfatov s tehnološkega vidika niso upravičene. Zadostuje 4-6 g fosfatov na kg, vendar ne kot P_2O_5 . Pri tem je potrebno paziti, da se v šunkah ne preseže vsebnost fosforja, ki je določena v nekaterih državah. Vrednost je pomembna predvsem v izdelkih, za katere proizvajalci trdijo, da fosfati niso dodani. Vrednost pridobimo po formuli: vsebnost fosforja (%) = $(P_2O_5 \text{ (%) v izdelku} / \text{beljakovine (%) izdelka}) \times 100$. V izdelkih brez dodanih fosfatov je običajno vrednost P med 1,8 in 2,2, v izdelkih z dodanimi fosfati pa je takoj nad 2,4. Vprašanje je, kaj je bilo dodano pri vrednostih med 1,8 in 2,2. To sivo območje proizvajalci izkoriščajo in dodajajo zelo majhne količine fosfatov, tako da ohranijo vrednost P pod 2,4. Vendar je izdelke z dodanimi fosfati, pa čeprav vrednost P ni preseгла 2,4, prepovedano tržiti kot izdelke s prehransko trditvijo »brez dodanih fosfatov«. Za pripravo razsolice se uporabljajo mešanice fosfatov s vrednostjo pH okrog 9,0. Mešanice z večjim pH (nad 10) negativno vplivajo na oblikovanje in stabilnost barve razsoljenega mesa, kajti pri konverziji iz nitrita v NO se tvori manj nedisociirane dušikove kisline. Rezultat je manj nitrozomioglobina. Mešanice z visokim pH niso primerne tudi zaradi rasti neželenih bakterij in alkalnega ali milnatega okusa v končnem izdelku. Za izdelavo zelo

injektiranih (extended) šunk se v razsolico običajno dodajajo tudi **sojini izolati** (5-40 g/kg izdelka) in **koncentrati**. Sojini izolati lahko imobilizirajo petkratno količino vode, njihova sposobnost emulgiranja maščobe pri teh izdelkih ni pomembna. Tvorijo gel, ki daje teksturo in ugriz izdelku. V nasprotju z izolati so sojini koncentrati cenejši, vendar ne tvorijo gelov, zato se tudi ne uporabljajo pogosto. Lahko pa se uporabljajo skupaj s karagenanom in škrobom, ko v mešanici postanejo učinkovitejši kot sami izolati. Soja se slabo topi v hladni vodi, upočasnjuje izdelavo razsolice, vendar ne povzroča grudičavosti. Pri izdelavi razsolice je zmes soje in vode potrebno močno mešati 5 do 10 min, da se soja dobro raztopi. Nekatere cenejše sojine beljakovine lahko mašijo filtre in igle, v nekaterih primerih pa dajejo močno rumeno-zeleno barvo izdelku. **Krvna plazma** je naslednja visoko funkcionalna beljakovina, ki poveča nabrekanje beljakovin mesa, saj ima vrednost pH nad 7,0 in dobro veže vodo. **Pšenične beljakovine** (1-2-(4) %) se prav tako uporabljajo pri proizvodnji konzerviranega mesa, predvsem zaradi nevtralne barve in okusa, izredno dobro se razporedijo v razsolici, ne mašijo igel in tudi v visokih koncentracijah ne povečujejo viskoznosti razsolice. Običajen dodatek v zelo injektirane šunke so tudi **škrobi** (10 do 50 g/kg izdelka), ki se dodajajo ali v razsolico ali v gnetilnik. Za injektiranje je potrebno izbrati tiste vrste škrobov, ki ne mašijo igel, se enostavno raztopijo v vodi in se ne posedajo. Če se škrob dodaja neposredno v gnetilnik, včasih nastanejo grudice in škrob se ne vpije dobro v meso. To se prepreči tako, da se škrob raztopi v majhni količini vode in se doda v obliki redko tekoče malte v gnetilnik. Škrob med toplotno obdelavo tudi zadržuje vodo v izdelku, po hlajenju pa oblikuje gel in oblikuje primerno teksturo izdelka. Prav tako sinergistično deluje z aktiviranimi mesnimi beljakovinami in drugimi ne-mesnimi beljakovinami, kot je soja (Feiner, 2006).

Karagenan je naslednji pogosto uporabljen aditiv (dodatek zakonsko ni omejen, običajno med 2 in 7 g/kg izdelka). Karagenan ima velikansko sposobnost za vezanje vode, že zelo majhne dodane količine karagenana zelo povečajo dobit po toplotni obdelavi: 1 g/kg končnega izdelka poveča dobit za 6-8 %. Tako majhne količine dodanega karagenana ne vplivajo na barvo in okus izdelka. Velik problem karagenana je njegova velika okuženost, z njegovo uporabo se zelo skrajša tudi čas obstojnosti končnega izdelka. Še tople toplotno obdelane šunke s karagenanom se ne smejo na noben način mehansko stiskati ali premetavati, dokler se ne tvori gel. Šele po toplotni obdelavi do središčne temperature 69 °C do 70 °C karagenan v šunki popolnoma razvije funkcionalne lastnosti in tvori gel. Zato se karagenan tudi ne sme dodajati v mesne izdelke, ki se prodajajo presni. **Guar guma** in **ksantan** se injektirata v mesne pripravke (svinjska pečenka), ki jih potrošniki dokončno toplotno obdelajo doma. Problem pri uporabi guar gume in ksantana je viskoznost razsolice, zato se ju lahko doda 0,3-0,8 g/kg izdelka (Feiner, 2006).

Kljub temu, da **natrijev klorid** ne sodi med aditive, ima v tovrstnih izdelkih pomembno funkcijo. Sol (16-22 g/kg izdelka) omogoči topnost beljakovin in prispeva k aromi. Skupaj s fosfati se s tehnološkega vidika za doseganje učinkovite topnosti beljakovin (aktivacije) doda do 12 g soli /kg izdelka. Ob manjšem dodatku soli (pod 12 g/kg izdelka) se zmanjšajo odbojne sile med mišičnimi vlakni, posledica je manjša količina raztopljenih beljakovin. Dodatek 50 g soli/kg izdelka (6 %) zagotavlja največjo topnost mišičnih beljakovin, vendar je dodatek nesprejemljiv zaradi slanosti, saj že meso samo po sebi vsebuje 1 % soli (laktatov, fosfatov in citratov). Pri dodatku soli nad 6 % beljakovine denaturirajo in sposobnost vezave vode mesnih beljakovin se poslabša (Feiner, 2006).

V šunke se pogosto dodajajo **arome in ojačevalci okusa**, kot sta mononatrijev glutamat ali ribonukleotid. So topni v vodi (razsolici) in ne mašijo igel. **Barvila** (karmin, fermentiran riž,...) na splošno v konzerviranem mesu niso potrebna. Potrebno jih je dodajati le v izdelke, pri katerih je dobit po toplotni obdelavi nad 140 %, predvsem zaradi poslabšane ali „razredčene barve“ razsoljenega mesa. Razsoljena barva konzerviranega mesa se oblikuje ob dodatku **Na nitrita** v območju 150-300 ppm/kg injiciranega mesa in ne končnega izdelka. Običajno se v presno meso injicira dvakratna količina dovoljenega ostanka nitrita v končnem izdelku, t.j. v konzerviranem mesu. Na primer, če je v končnem izdelku dovoljenega 125 ppm nitrita, se ga v meso injicira 180-250 ppm (0,18-0,25 g). V izdelke večjega premera se doda več nitrita kot v izdelke manjših premerov. Na primer, če se v šunke premerov med 60 in 160 mm doda 200 ppm nitrita, v primeru šunke z večjim premerom toplotna obdelava do iste središčne temperature traja bistveno dlje kot pri manjšem premeru. Posledica je, da se v šunkah z večjim premerom značilno več nitrita oksidira v nitrat, oz. ostanek nitrita je manjši kot v šunkah z manjšim premerom. Praviloma se v mesni industriji nitrit uporablja v mešanici s soljo (nitritna sol), npr. 2 g nitritne soli (0,2 %) vsebuje 10 % nitrita in 90 % soli, posledično se 200 ppm nitrita injicira v 1 kg mesa. **Nitrat** se v proizvodnji konzerviranega mesa ne uporablja, ker običajno zmanjka časa za redukcijo nitrata v nitrit in oblikovanje razsoljene barve. V razsolice za izdelavo konzerviranega mesa se lahko dodajo tudi **stabilizatorji barve**, kot sta askorbat in eritorbat (0,4-0,8 g/kg izdelka). V razsolico z nitritom se **askorbinska kislina** nikoli ne doda, kajti ob direktnem stiku nitrita in askorbinske kisline poteče takojšnja reakcija, nastaneta NO in NO₂, za človeka toksični komponenti. **Askorbati**, dodani v razsolico z nitritom, ne reagirajo zaradi alkalnega pH. **Citronska kislina** in **druge kisline** se ne dodajajo v razsolico, ker znižujejo pH. Kisli dodatki so ali pa tvorijo kisline, ki sproščajo v razsolico protone, ti pa lahko reagirajo z nitritom. Dokler je pH razsolice nad 8,0, dodatek kislih dodatkov ni problematičen le, če se dodajo čim bolj na koncu izdelave razsolice, po dodatku soli. Vendar pa je njihova uporaba zastarela. Za povečanje čvrstosti konzerviranega mesa in zmanjšanje izgub se dodajajo tudi **encimi transglutaminaze (0,5 g/kg izdelka)** (Feiner, 2006).

Voda se v šunke dodaja kot topilo beljakovin v povezavi s fosfati in soljo ter zato, da poceni izdelek. Voda za pripravo razsolice mora biti pitna in brez klora. Led ali voda za pripravo razsolice morata imeti temperaturo 0-2 °C. Pomembna je tudi trdota vode, ker trša voda povzroča težave s funkcionalnostjo fosfatov. **Laktati** ali mešanice laktata in diacetata se dodajajo predvsem zaradi podaljšanja roka uporabe izdelkov z veliko površino in tistih, ki se režejo na rezine. Priporočljiva količina dodatka natrijevega laktata je 25-30 g/kg izdelka, pri tem pa se lahko zmanjša količina dodane soli na 1-2 g/kg izdelka, saj natrijev ion iz laktata v kombinaciji z natrijevim ionom iz natrijevega klorida prispeva k bolj izraženemu slanemu okusu. Težava se lahko popravi z dodatkom sladkorja, vendar ob nepravilni toplotni obdelavi lahko nastane kisel priokus. Alternativa uporabi Na laktata je K laktat, ki se ga dodaja 30-35 g/kg izdelka, pri čemer pa se količina dodane soli ne sme zmanjšati. Že manjše zmanjšanje dodatka soli lahko v izdelku povzroči manjšo dobit po toplotni obdelavi zaradi zmanjšane ionske moči in slabšega nabrekanja beljakovin. Če zmanjšamo dodatek soli za 1-2 g/kg izdelka, je potrebno dodati karagenan ali beljakovine; dobit po toplotni obdelavi se na ta način ne zmanjša, vendar je za podaljšanje roka uporabe potrebno dodati ali acetat (1-1,5 g/kg), problem je priokus po vinskem kislu, ali laktat, ki je higroskopičen (60-70 % svoje mase) in nekoliko poveča dobit po toplotni obdelavi. Dodan **sladkor** (5-15 g/kg izdelka) v obliki **dekstroze, saharoze ali rjavega sladkorja** zaokroži aromo, prikrije slan okus, sodeluje pri Maillardovi reakciji, če se končni izdelek praži, in poveča suho snov v izdelku. Dekstroza je manj sladka kot saharoza, zato se je dodaja več kot saharoze. Vpliv

sladkorjev na dobit toplotne obdelave je zelo majhen, pač pa zmanjšujejo vrednost a_w in s tem prispevajo k podaljšanju obstojnosti. Vendar pa morajo biti izdelki toplotno obdelani vsaj do središčne temperature 70 °C, da se prepreči rast bakterij, katerim je idealen substrat. Iz istega razloga se v proizvodnji konzerviranega mesa uporablja tudi maltodekstrin (koruzni sirup), le da med praženjem izdelki manj porjavijo, je tudi manj sladek in cenejši (Feiner, 2006).

Redko se v proizvodnji konzerviranega mesa uporablja tudi **natrijev metabisulfit** (NMBS, E 223), konzervans, ki v razsolici ne reagira z nitritom, če sta oba aditiva dodana v podobnih koncentracijah, ali če je nitrita več ter je pH razsolice pod 7,2. V nasprotnem primeru, če je NMBS bistveno več kot nitrita, lahko izrine nitrit iz razsolice. Posledica sta slaba barva in aroma izdelka. Po injiciranju razsolice z vrednostjo pH pod 7 se v mesu iz NMBS sprosti SO_2 , ki deluje kot konzervans, vendar le do trenutka, ko se izdelek toplotno obdeli. V fazah pred toplotno obdelavo NMSB zavira rast bakterij, ko pa je izdelek toplotno obdelan, beljakovine denaturirane, voda pa imobilizirana, NMSB ne deluje več kot konzervans, kajti za delovanje zahteva prosto vodo za sproščanje SO_2 (Feiner, 2006).

Vrsta in količina aditivov določajo obseg injektiranja razsolice in pričakovano dobit po toplotni obdelavi. Visoka dobit po toplotni obdelavi zahteva močno učinkovite dodatke – npr. **karagenan, škrob in beljakovine**. Pri tem velja, da ni smiselno injicirati 70 % razsolice, če dodamo samo fosfate in sol, ker nimajo dovolj moči, da bi vezali vso dodano vodo, posledično lahko pride do izločanja vode. Paziti je treba tudi, da so v razsolici vsi delci uporabljenih aditivov po tako majhni, da ne blokirajo igel ali filtrov (0,5-0,6 mm) med injiciranjem. Zato se za injiciranje rib in perutnine uporabljajo drobnejše igle, prilagoditi je potrebno tudi aditive (Feiner, 2006).

Priprava razsola je ena od najpomembnejših stopenj v proizvodnji konzerviranega mesa, saj zagotavlja živo barvo, primerno dobit po toplotni obdelavi, obstojnost in povezanost rezine končnega izdelka. Razsol je raztopina topnih in netopnih snovi, razporejenih ali raztopljenih v vodi. Optimalna temperatura razsola med pripravo je med -2 in 2 °C. Nižje temperature predstavljajo manjšo nevarnost dviga temperature mase med gnetenjem, manjše je mikrobiološko tveganje. Nekoliko drugačne so meje optimalne temperature topnosti v soli topnih beljakovin, in sicer med 0 in 3 °C. Zelo pomemben je vrstni red dodajanja aditivov: najprej se dodajo tisti, ki se topijo (fosfati, sladkor in sol), nato tisti, ki se razpršijo (škrob in karagenan). Prvi se vedno dodajo fosfati (porabijo veliko vode, 2-5 min; sol nikoli pred fosfati), sledijo sladkorji in beljakovine (sojine, 10-15 min), nato še sol, ki zmanjša površinsko napetost, ter škrob in karagenan, ki se zato lažje razporedita (Feiner, 2006).

4.4 SUŠENE SALAME

Kot salame se po Pravilniku o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov (2017) lahko poimenujejo mesni izdelki, ki se izdelujejo iz razdetega prašičjega mesa (zmletega, sekljanega), mastnine, dodatnih sestavin, soli, aditivov, začimb, začimbni ekstraktov, arom in tehnoloških dodatkov. Nadev salame se polni v prepustne naravne ali umetne ovitke in se jih nato suši in zori v naravnih ali klimatiziranih sušilnicah in zorilnicah. Salame so lahko hladno dimljene ali poraščene s plemenito plesnijo. Užjitne so po določenem času sušenja in zorenja. Salame se proizvajajo kot klasično sušene (brez pospeševalcev zorenja) ali hitro fermentirane. Ne glede na prvi odstavek tega člena se lahko salame proizvajajo tudi iz mesa drugih vrst živali, vendar je treba v imenu navesti vrsto živali, iz katere je meso, če je tega najmanj 50 %, razen v primeru ovčjega in

konjskega mesa, ki ga mora biti v nadevu več kot 30 %. Ostale vrste mesa morajo biti navedene v sestavinah skladno s predpisom, ki ureja zagotavljanje informacij o živilih potrošnikom.

Aditivi in druge dodatne sestavine, ki se uporabljajo pri izdelavi sušenih salam, so opisani v nadaljevanju in so povzeti po Feinerju (2006). **Sol** (25-30 g/kg nadeva) zavira rast bakterij; dodatek pod 25 g/kg nadeva ni priporočljiv, dodatek nad 25 g/kg nadeva zelo učinkovito inhibira rast bakterij s tem, da v nadevu zmanjša vrednost a_w (optimalno 0,96-0,97). Sol je tudi ojačevalec okusa, pomaga aktivirati beljakovine, potrebne za povezanost rezin v končnem izdelku, med izdelavo dodatek soli zmanjša temperaturo mase nadeva za okoli 1-2 °C. Relativno velika količina prisotne soli v nadevu salam tudi zniža temperaturo zmrzišča vode v pustem mesu na okoli -4 °C. Tako nizke temperature pa preprečujejo gnecavost maščobnega tkiva. Danes se večina salam, predvsem hitrofermentiranih, izdelava z dodanim **nitritom**. Nitrit, dodan v nadev salam, v začetni fazi fermentacije predstavlja dodatno oviro za razmnoževanje bakterij. Običajno se doda v obliki natrijeve soli, dodatek pa je praviloma odvisen od največjega dovoljenega ostanka nitrita v končnem izdelku (okvirno 150-500 ppm/kg presnega nadeva). Dodatek 130 ppm nitrita/kg nadeva zavira rast enterobakterij, kot so *Salmonella* spp., in drugih gram-negativnih bakterij. Nitrit je še posebej pomemben v proizvodnji hitrofermentiranih salam, ko se temperatura med fermentacijo poviša do 26 °C in 30 °C. Nitrit kot tehnološka ovira pri konzerviranju fermentiranih salam je bolj učinkovit kot pri večini drugih mesnih izdelkov (npr. pasterizirane klobase). Razloga sta večja učinkovitost nitrita pri majhnih vrednostih pH in prav zakisanje nadeva salame je prvi proces, ki poteče med fermentacijo. V razsoljenih pasteriziranih mesnih izdelkih pa se vrednost pH poveča zaradi dodatka alkalnih fosfatov, kar prizadene učinkovitost nitrita. Že dva dni po izdelavi v salamah ne moremo določiti večjega ostanka nitrita, ker ta reagira na veliko različnih načinov. Če se v nadev dodata askorbinska kislina ali glukonodelta laktan, se v nadevu že v nekaj urah koncentracija dodanega nitrita zelo zmanjša. Pri tem lahko v kislih razmerah, ki nastanejo po zakisanju nadeva salam, iz nitrita nastanejo zelo majhne količine nitrozaminov kot tudi sekundarnih in terciarnih aminov. Namesto nitrita se v počasi fermentirajoče (klasične) salame pogosto dodaja **nitrat**, in sicer v obliki kalijevega nitrata. Nitrat ne vpliva značilno na rast bakterij. Prispeva pa k razvoju razsoljene barve salam, vendar je predhodno potrebna redukcija nitrata v nitrit, šele ta se lahko veže na mioglob in tvori nitrozomioglobin (Feiner, 2006).

Askorbinska kislina in askorbat (eritorbat) delujeta tudi kot **stabilizatorja barve** (0,5-0,7 g/kg nadeva). Večje količine dodane askorbinske kisline in askorbata lahko spodbujajo rast nezaželenih bakterij. Za enako učinkovitost ojačitve barve je potrebno v nadev dodati nekoliko večjo količino askorbata kot askorbinske kisline. Danes se askorbinska kislina pogosto uporablja pri izdelavi hitrofermentiranih salam. Za izdelavo klasično fermentiranih salam pa se kot stabilizator barve uporablja askorbat. Če se uporablja askorbinska kislina, jo je potrebno dodati v nadev čisto na začetku, sol in nitrit se običajno dodajata skupaj, ob koncu sekljanja ali mešanja nadeva (Feiner, 2006).

V salame se dodajajo različne **začimbe**, pri čemer je treba paziti, da niso kontaminirane. Večinoma se dodajajo poper in česen (dajeta osnovni okus) ter koriander, muškadni cvet, muškadni orešček, papriko, čili, gorčično seme v prahu... Barvila, kot je karmin, so v nekaterih državah dovoljena in se tudi pogosto dodajajo. V večini držav je dovoljena tudi uporaba **fosfatov** zaradi lažjega polnjenja mase v ovitke, manjše gnecavosti maščobnega tkiva in se jih dodaja v količini med 0,2-0,4 g/kg mase (Feiner, 2006).

V proizvodnji salam se uporabljata dve vrsti **sladkorjev**. Osnovna funkcija sladkorjev je zagotoviti hranilo za starterske kulture, oz. da se fermentirajo v druge sestavine, zaželeno v mlečno kislino. Dodani sladkorji tudi zaokrožijo okus salam in zmanjšajo vrednost a_w v izdelku. Zato tudi predstavljajo manjšo tehnološko oviro za razmnoževanje bakterij. Zmanjšanje vrednosti pH v izdelkih je odvisno predvsem od vrste in količine dodanih sladkorjev. Povečane količine sladkorjev povzročijo sicer močnejše zakisanje in s tem tudi manjše vrednosti pH. Da se fermentirajo do mlečne kisline, se morajo sladkorji, kot so saharoza, laktoza in maltoza, razgraditi v monosaharide. Po drugi strani pa se glukoza lahko direktno fermentira v mlečno kislino. Po hitrosti fermentacije ji sledi saharoza. Maltoza in laktoza potrebujeta bistveno dlje časa, da se razgradijo glikozidne vezi in nastanejo monosaharidi. V bistvu lahko vse mlečnokislinske bakterije fermentirajo glukozo do mlečne kisline. Saharozo pa lahko fermentira le okoli 85 % mlečnokislinskih bakterij, maltozo 70 % in laktozo le 55 % vseh mlečnokislinskih bakterij. Okoli 30 % mlečnokislinskih bakterij lahko fermentira galaktozo do mlečne kisline. Sladkorji, ki se direktno ne fermentirajo ali se fermentirajo le delno (npr. laktoza, maltoza, galaktoza ipd.), so pomembni za razvoj barve izdelka. D-glukoza (0,1 %) zmanjša vrednost pH nadeva za 0,1 pH enote. Torej, 8-10 g D-glukoze/kg nadeva zmanjša vrednost pH salame iz 5,7 na okoli 4,6-4,8. Sladkor izboljša barvo posredno; pri fermentaciji sladkorjev do kislin se vrednost pH v salamah zmanjša, nastane nedisociirana dušikova kislina (NHO_2). Več nedisociirane NHO_2 pa pomeni boljše, močnejšo razsoljeno barvo v izdelku. Sladkor kot hranilo lahko uporabljajo tudi bakterije, kot so *Micrococcus* spp., ki reducirajo nitrat v nitrit in na ta način pomagajo oblikovati dobro barvo razsoljenega mesa. Maltodekstrini se redko uporabljajo v proizvodnji sušenih salam, čeprav se nekateri razgradijo do zelene mlečne kisline. Procesni parametri, kot so različna hitrost in stopnja zakisanja ter prispevek o oblikovanju arome, danes omogočajo uporabo mešanic sladkorjev namesto posameznih sladkorjev (Feiner, 2006).

Starterske kulture so izbrane bakterije, ki se dodajajo salamam zaradi njihovega pozitivnega prispevka k zakisanju in s tem k mikrobiološki stabilnosti izdelka, k barvi in aromi (Smole Možina in Raspor, 1994; Hansen, 2002). Ne smejo biti škodljive za zdravje ljudi, biti morajo tolerantne na velike koncentracije soli in tudi nitrita, aktivne morajo biti pri nizkih temperaturah okoli 0 °C, kakršna je temperatura nadeva takoj po polnjenju v ovitke. Število dodanih starterskih kultur, dodanih nadevu salam, mora biti najmanj $10^7/\text{g}$ in že v prvih fazah sušenja prevladajo nad avtohtono mikrofloro, zmanjšajo vrednost pH, kar inhibirno deluje na neželene mikroorganizme, s tem preprečijo kvar izdelka. Starterske kulture, ki se uporabljajo v proizvodnji sušenih klobas, so večinoma homofermentativne (glukozo pretvorijo predvsem v mlečno kislino). Pri heterofermentativnih sevih, ki izkoriščajo fosfoketolazno pot, so pomembni produkti še acetat, etanol, različne organske kisline in CO_2 (Smole Možina in Raspor, 1994).

Komercialne starterske kulture sestavljajo različni predstavniki bakterij, plesni in kvasovk. Najpogostejše zastopani mikroorganizmi v starterskih kulturah so: bakterije *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. sake*, *Lb. curvatus*, *Lb. lactis* in *Lb. fermenti*), *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* in *P. cerevisiae*), *Staphylococcus* (*Staph. carnosus*, *Staph. xylosus*), *Micrococcus* (*Kokuria varians*, *M. candidus* in *M. aquatilis*), kvasovke *Debarymyces hansenii* in plesni *Penicillium nalgiovense*, *P. candidum* (Inze, 2003; Feiner, 2006). Starterske kulture se prodajajo v zmrznjeni, liofilizirani ali tekoči obliki, večina jih je neproteolitičnih in nelipolitičnih. V maso za salame se dodajo ob začetku razdevanja mesa ali mešanja nadeva in jih je potrebno enakomerno porazdeliti. Neenakomerna

porazdelitev lahko botruje neenakomernemu zakisanju nadeva in neustreznim izdelkom. Danes se dodajajo v obliki mešanic starterskih kultur, zato da dodane kulture delujejo v širokem temperaturnem razponu in pri različni vlažnosti nadeva med fermentacijo in sušenjem. Nikoli pa se ne dodajajo v obliki popolnih mešanic skupaj z aditivi in začimbami. Kakšna mešanica starterskih kultur se izbere je odvisno od postopka fermentacije. Tako ločimo starterske kulture, ki omogočijo hitro, srednje hitro in počasno zakisanje. Hitre starterske kulture se uporabljajo za proizvodnjo salam, pri katerih se mora vrednost pH 5,2 (ali manj) doseči v 24-48 urah. Srednje hitre starterske kulture se uporabljajo za salame, kjer se mora pH vrednost zmanjšati pod 5,2 po približno 48-96 urah. Za proizvodnjo počasi fermentiranih salam pa se dodaja bolj zaščitene starterske kulture, ki praktično ne prispevajo k zakisanju nadeva. Njihov dodatek je namenjen bolj k nadaljnjemu razvoju razsoljene barve in okusa izdelka. Kvasovke in plesni so aerobne glive in se lahko nahajajo samo na površini salame. Tako kvasovke kot plesni (plemenite plesni) apliciramo na površino salame z inokulacijo. Lahko jih bodisi napršimo po izdelku ali pa izdelek pomočimo v raztopino, ki vsebuje približno 10^6 plesni ali kvasovk/ml. Kvasovke in plesni zaščitijo salame pred kisikom, stabilizirajo barvo in upočasnijo razvoj žarkosti. Prav tako se z njimi prepreči oblikovanje čvrstega (suhega) roba ali otrditev ovitka, kajti sloj kvasovk ali plesni zaščiti površino salame pred preobsežnim sušenjem. Pri uporabi starterskih kultur plesni je treba paziti še na dejstvo, da se uporabljajo samo tiste vrste, ki ne proizvajajo mikotoksinov (Feiner, 2006).

4.5 SUŠENO MESO

Po Pravilniku o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov (2017) se kot sušeno meso lahko poimenuje mesni izdelek, proizveden iz integralnih kosov soljenega ali razsoljenega mesa, hladno dimljenega ali nedimljenega ter sušenega in zorjenega do stopnje, primerne za uživanje brez predhodne toplotne obdelave. Sušeno meso je lahko meso klavnih živali in divjadi s kostmi ali brez, s kožo ali brez. Aktivnost vode izdelka ne sme biti višja od 0,93. Naša tradicionalna poimenovanja za sušeno meso so npr. pršut, sušeno stegno, sušeno pleče, sušena vratina, budjola, zašinek, panceta ali sušena mesnata slanina.

Pri proizvodnji sušenega mesa se uporablja le nekaj aditivov in drugih sestavin. Podobno kot pri proizvodnji sušenih fermentiranih salam je cilj odstranitev vlage, zato se aditivi, ki vežejo vodo, kot so karagenan, beljakovine in škrob, ne uporabljajo. **Sol** se uporablja kot ovira proti mikrobiološkemu kvaru; zmanjšuje vrednost a_w v sveže soljenih izdelkih in prispeva k okusu. Običajen dodatek soli je 32-35 g/kg neobdelanega mesa. Potem ko meso med soljenjem izgubi nekaj mase in se po prerezu enakomerno razporedijo dodani aditivi (nitritna sol) ali dodana morska sol in notranjost izdelka doseže vrednost a_w pod 0,95, postane izdelek mikrobiološko varen pred enterobakterijami. Pri vrednosti a_w 0,95 je v izdelku približno 4,3-4,5 % soli. **Nitrit** se uporablja za oblikovanje razsoljene barve, zaradi prispevka k aromi sušenega mesa in še zlasti kot dodatna ovira za rast bakterij in k enakomerni porazdelitve razsola v fazi razsoljevanja. **Nitrati** se občasno še vedno uporabljajo, vendar le v izdelkih, sušenih daljše časovno obdobje in narejenih na zelo tradicionalen način. Nitrat ne ovira rasti bakterij (ni bakteriostatik). Dodatek nitrata ne pomeni, da je nitrit prisoten; nitrat bakterije, kot so *Micrococcus* spp., reducirajo do nitrata le pri temperaturah nad 8 °C, razsoljevanje pri teh povišanih temperaturah pa omogoča rast bakterij, kot so *Salmonella* spp. in *S. aureus*. Zato se **nitrit in nitrat** običajno uporabljata skupaj, v mešanici, da je med razsoljevanjem prisoten zagotovo tudi nitrit. Zaradi enostavnosti in varnosti se največkrat uporablja samo nitrit, saj

predstavlja takojšnjo oviro za rast mikrobov, pa tudi neposredno prispeva k oblikovanju barve razsoljenega mesa (Feiner, 2006).

Za **stabilizacijo barve** mesa med sušenjem se pogosto dodajata **askorbat** in **eritorbat**, ko se ostanek nitrata v prisotnosti askorbata reducira v NO in tvori nitrozomioglobin. Običajen dodatek askorbata je 0,6-1,0 g/kg mesa. **Askorbinska kislina** se ne uporablja kot stabilizator barve, saj lahko na površini mesa pride v direkten stik z nitritom, prisotna vlaga na površini mesa že zadostuje za sprožitev reakcije z nitritom, kar ima za posledico tvorbo visoko strupenih dušikovih oksidov, NO in NO₂. V sušeno meso se dodajajo tudi **sladkorji**, predvsem zaradi zakisanja izdelka. Pri dodatku **glukoze** 2-3 g/kg izdelka so opazili rahlo zakisanje, saj naravno prisotne bakterije rodu *Lactobacillus* spp. fermentirajo glukozo v mlečno kislino. Sladkor prispeva tudi k okusu in stabilnosti barve izdelka. Sladkor je namreč substrat za rast bakterij rodov, kot so *Micrococcus* spp., ki reducirajo nitrat v nitrit in s tem prispevajo k močnejši in dlje časa obstojni barvi razsoljenega mesa. Znano je, da **laktoza** zaokroži aromo mesa, dodani sladkorji pa tudi opazno zmanjšajo slanost izdelka. Dodan sladkor prav tako zmanjša *a_w*, ker raztopljeni ioni imobilizirajo vodo in na ta način zmanjšajo količino proste razpoložljive vode. Sladkorja se običajno doda med 3 in 8 g/kg, preveliki dodatki premočno poudarijo sladkost arome izdelka (Feiner, 2006).

Pogosto se uporabljajo za poudarjanje okusa **začimbe**, kot so česen, poper in koriander. Večinoma se uporabljajo naravne začimbe, oleorezini se uporabljajo le izjemoma. V nasprotju s **starterskimi kulturami** se v sušenem mesu, z namenom okrepiti in stabilizirati barvo in okus, uporabljajo predvsem **zaščitne kulture**. Ne dodajajo se zaradi zakisanja kot je to v primeru hitrofermentiranih izdelkov. Take kulture so bakterije vrst *S. carnosus* in *Lactobacillus pentosus*, saj dobro prenašajo veliko koncentracijo soli. Obe bakterijski vrsti vsebujeta tudi encime proteaze, lipaze in katalaze. Proteaze in lipaze vplivajo na harmoničnost arome, saj proteaze razgrajujejo beljakovine do peptidov in prostih aminokislin, medtem ko lipaze razgrajujejo maščobe do prostih maščobnih kislin. Katalaza pa upočasni razvoj žarkosti med podaljšanim sušenjem in zorenjem s tem, da encim razgradi vodikov peroksid v vodo in kisik. Prisotnost vodikovega peroksida bi lahko povzročila nastanek prostih radikalov, če ne bi bil že prej razgrajen in posledično bi se lahko pospešila žarkost. Zaščitne kulture tudi okrepijo rast konkurenčne flore in pospešijo redukcijo nitrata v nitrit. Bakterije rodov, kot so *Micrococcus* spp., *Pediococcus* spp. in *Staphylococcus* spp. se v glavnem uporabljajo za redukcijo nitrata, saj imajo encim nitrat reduktazo; določen del nitrata, dodanega med razsoljevanjem se vedno oksidira v nitrat in je neuporaben, če se ponovno ne reducira v nitrit. Povečana vsebnost nitrata pozitivno vpliva na barvo in aromo po razsoljenem in deluje kot 'ovira' proti mikrobiološkemu kvaru. Nekateri stafilokoki izkazujejo določeno nitrozirajočo aktivnost pri nizkih temperaturah (5 °C) in reducirajo NO₃ v NO₂, kar je koristno. Za preprečevanje rasti plesni med sušenjem se tovrstne izdelke lahko potaplja v 10-15 % raztopino kalijevega sorbata (Feiner, 2006).

4.6 MESO S POVEČANO VSEBNOSTJO VODE IN MARINIRANO MESO

V ZDA se okoli 60 % prašičjega mesa prodaja na drobno kot meso s povečano vsebnostjo vode (angl. *moisture-enhanced* (MEM) ali *case-ready meat*). Feiner (2006) ugotavlja tudi, da se v nekoliko manjšem obsegu na ta način prodaja tudi veliko govedine in piščančjega mesa, ti izdelki pa na tržišču dosegajo premium kakovost. Pri izdelavi MEM se poleg soli najpogosteje uporabljajo še aditivi, kot so fosfati in laktati. **Fosfati** morajo biti topni v vodi/slanici, saj lahko le popolnoma raztopljeni delujejo na beljakovine v injiciranem kosu mesa, t.j. imobilizirajo ali vežejo dodano vodo. Običajno se fosfatov

doda 2 do 4 g/kg injiciranega mesa, pri tem mora biti vrednost pH mešanice fosfatov med 8,7 in 9,2. Fosfatni preparati z vrednostjo pH nad 9,4 namreč v mesu zelo povišajo vrednost pH in pospešijo mikrobiološki kvar. Prav tako pa lahko v izdelku pustijo milnat (alkalen) okus. Pri pripravi MEM se običajno **sol** doda do 4-8 g/kg, predvsem zaradi poudarjanja naravne arome mesa in povečanja ionske moči. Povečana topnost beljakovin je posledica sinergističnega delovanja dodane soli in fosfatov na sposobnost mesa za vezanje vode. **Laktat**, dodan med 25 in 32 g/kg injiciranega mesa, kljub dodani vodi pozitivno vpliva na podaljšanje roka uporabe, izboljšanje arome in sočnosti kot tudi na izboljšanje barve injiciranega mesa. Laktat prispeva tudi k zmanjšanju izgub v končnem izdelku. Barva svežega mesa, predvsem svinjine, zelo hitro zbledi, predvsem površina zelo pogosto zelo hitro pridobi zbledelo, sivkasto barvo. Prav dodan laktat okrepi naravno rdečo barvo mesa in pomaga ohraniti svetlečo površino. Dodan laktat tudi rahlo poviša vrednost pH, kar povzroči redukcijo metmioglobina v reduciran mioglobin, ki edini lahko v prisotnosti kisika dezoksigenira v oksimioglobin in posledično oblikuje močnejšo barvo mesa. Pogosto je sposobnost laktata, da ohranja atraktivno barvo, še pomembnejša od podaljšanja roka obstojnosti izdelka. To pa zato, ker se poslabšanje barve mesa zgodi prej kot mikrobiološki kvar. Kalijev laktat pogosto zamenja natrijev laktat, zato ker ne prispeva k slanosti izdelka. V hladni **vodi topne gume ali zgoščevalci**, kot so guar in ksantan guma ter v hladni vodi topni škrobi, se pri tovrstnih izdelkih ne uporabljajo, čeprav bi iz tehnološkega vidika lahko upravičili njihovo uporabo. Ker se končni izdelki prodajajo presni, dodana sredstva za zgostitev (gostila) lahko pomagajo zadržati dodano vodo. Vendar pa v nekaterih državah dodatek teh aditivov ni dovoljen, ker se z njimi z lahkoto pridobijo izdelki s t.i. 'mejnimi recepturami' oz. visokimi randmaji. To pa je v nasprotju s prvotnim konceptom MEM (izboljšanje kakovosti mesa). V skrajnih primerih (večina sveta namreč ne sprejema koncepta MEM) proizvajalci v meso vbrizgajo tudi od 40 % do 60 % vode in pri tem uporabljajo različna gostila, ki nabrekajo v hladni vodi, kot so **ksantan in guar gumi**, pa tudi **škrob in karagenan**. Predvsem s slednjim aditivom dosežejo visoke dobitke med toplotno obdelavo mesa, injiciranega z viskozno slanico z namenom, da zadrži veliko dodane vode. Na označbi (deklaraciji) izdelka MEM je jasno treba poudariti dejstvo, da ja tako mesno nujno potrebno toplotno obdelati do središčne temperature 72 °C. Proizvajalci občasno v slanico (13-15 g soli/kg mesa, fosfati, laktati, voda, olje, kis, papain, gostila, med ..) dodajajo tudi **arome** (različne začimbe, kot so česen, poper, čebula in čili) in **ojačevalce okusa** ter s tem pridobijo izdelke, ki jih raje označujemo kot **marinirano meso** in ne MEM, obogateno meso (Feiner, 2006).

5 ZAKLJUČEK

Med aditivi, ki se uporabljajo v mesni industriji, so največje pozornosti deležni nitrati in nitriti. Zato za zaključek navajamo besede toksikologa Püssa (2013), ki meni, da je čas, da rehabilitiramo sloves nitritov. Najpomembnejši vir nitratov in nitritov je pravzaprav z nitratom bogata zelenjava (solata, rdeča pesa, korenje, špinača, zelje, redkev, zelena, itd.) (Santamaria, 2006). Večina epidemioloških študij povezuje uživanje mesa in mesnih izdelkov, ki vsebujejo zelo malo nitrata in nitrita, s pojavnostjo določenih vrst raka, čeprav so povezave zelo šibke. Vendar pa se lahko nitriti in nitrati v nekaterih živilih in dietah metabolizirajo do dušikovega oksida in izkazujejo določene prednosti za kardiovaskularni sistem in citoprotekcijo z zelo malo tveganja. Te prednosti nitrata in nitrata v humani prehrani potrjujejo tudi številni klinični poskusi z nitritom in nitratom (Tang in sod., 2011). Dejstva o aditivih se lahko prikazujejo na razne načine; lahko se poudarjajo njihove prednosti ali slabosti ali pa se celo ustvarjajo bolj ali manj neosnovani dvomi o varnosti njihove uporabe. Tako je posebej zanimiva ugotovitev

Kataleniča (2008), ki pravi, da kadar na živilu piše 'brez konzervansov', proizvajalci običajno želijo poudariti posebne lastnosti živila in s tem zavajajo potrošnika.

6 VIRI

- Allais I. 2010. Emulsification. V: Handbook of meat processing. Toldrá F. (ed.). Ames, Blackwell Publishing: 143-168
- Alvarado C., McKee S. 2007. Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. The Journal of Applied Poultry Research, 16: 113-120
- Considine D.M., Considine G.D. 1982. Foods and Food Production Encyclopedia. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Demšar L., Polak T. 2010. Tehnologije mesa in mesnin I: drugi učbenik za študente univerzitetnega študija Živilstvo in prehrana pri vajah predmeta tehnologije mesa in mesnin I. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.
- Endres J.G. 2001. Soy protein products: characteristics, nutritional aspects, and utilization. Illinois, AOCS Press: 55 str.
- Feiner G. 2006. Meat products handbook - Practical science and technology. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Hansen E.B. 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. International Journal of Food Microbiology, 78: 119-131
- Heinz G., Hautzinger P. 2007. Meat processing technology: for small-to medium-scale producers. Bangkok, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific: 456 str. <http://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ai407e> (maj 2017)
- Hoogenkamp H.W. 2005. Soy protein essentials V: Soy protein and formulated meat products. Hoogenkamp H.W. (ed.). Wallingford, CABI Publishing: 7-18
- Incze K. 2003. Mikrobiologija presnih klobas V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 342-350
- Jiménez-Colmenero, F., Ayo M.J., Carballo J. 2005. Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. Meat Science, 69, 4: 781-788
- Katalenić M., 2004. Emulgatorske soli. Meso, 6(4): 45-51
- Katalenić M., 2008. Aditivi in prehrana. Medicus, 17, 1: 57-64
- Kehlet U., Pagter M., Aaslyng M.D., Raben A. 2017. Meatballs with 3% and 6% dietary fibre from rye bran or pea fibre - Effects on sensory quality and subjective appetite sensations. Meat Science, 125: 66-75
- Leroy F., De Vuyst L. 2009. Fermentation and acidification ingredients. V: Ingredients in meat products. Properties, functionality and applications. Tarté R. (ed.). New York, Springer: 227-252
- Lojvec I. 2014. Vpliv različnih hidrokoloidov na teksturne lastnosti mesne emulzije. Diplomsko delo, univerzitetni študij, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana: 50 str.
- Long N.H.B.S., Gál R., Buňka F. 2011. Use of phosphates in meat products. African Journal of Biotechnology, 10(86): 19874-19882
- Lušnic Polak M., Vnuk K., Demšar L., Polak T., Šubic T. 2016.. Ugotavljanje potvorbe kranjskih klobas z dodatkom fosfatov. V: Z znanjem in izkušnjami v nove podjetniške priložnosti : zbornik referatov. Maček Jerala M., Maček M.A., Kolenc Artiček M. (Eds.). 4. konferenca z mednarodno udeležbo - konferenca VIVUS s področja kmetijstva, naravovarstva, hortikulture in floristike ter živilstva in prehrane, 20.-21. april 2016, Strahinj, Naklo, Slovenija. Strahinj: Biotehniški center Naklo.
- Marušić N., Janči T., Vidatek S., Medić, H. 2013. Fosfati in polifosfati v mesni industriji. Meso, 15(3): 160-163
- Morela U. 2017. Vpliv dodatka različnih sredstev za vezanje vode na stabilnost goveje mesne emulzije. Magistrsko delo (Du2). Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: v pripravi.
- Paramithiotis S., Drosinos E.H., Sofos J.N., Nychas G.E. 2010. Fermentation: microbiology and biochemistry. V: Handbook of meat processing. Toldrá F. (ed.). Ames, Blackwell Publishing: 185-198
- Pavlovič N. 2017 (v izdelavi). Optimizacija teksturnih lastnosti koagulatov mesnih namazov, izdelanih z različnimi škrobi in vrstami moke. Magistrsko delo, MSc študij. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 59 str.
- Pravilnik o kakovosti mesnih izdelkov in mesnih pripravkov. 2017. v pripravi
- Puolanne E.J., Ruusunen M.H., Vainionpää J.I. 2001. Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. Meat Science, 58: 1-7

- Püssa T. 2013. Toxicological issues associated with production and processing of meat. *Meat Science*, 95: 844-853
- Saltmarsh M. 2013. *Essential guide to food additives*. 4th ed. Cambridge, RSC Publishing: 294 str.
- Santamaria P. 2006. Nitrates in vegetables: Toxicity, content, intake, and EU regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 10-17
- Serdar M., Katalenić M. 2006. Optimalna količina aditiva u mesnim proizvodima. *Meso*, prvi hrvatski časopis o mesu, 8, 2: 78-85
- Shafiur Rahman M. 2007. Nitrites in food preservation. V: *Handbook of food preservation*. Shafiur Rahman M. (ed.). 2nd ed. Boca Raton, CRC Press: 299-314
- Smole Možina S., Raspor P. 1994. Starter kulture v živilstvu. 16. BŽD, Aditivi, Bled 8. in 9. jun. 1994: 99-108
- Tahmasebi M., Labbafi M., Emam-Djomeh Z., Yarmand M.S. 2016. Manufacturing the novel sausages with reduced quantity of meat and fat: The product development, formulation optimization, emulsion stability and textural characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 68: 76-84
- Tang Y., Jiang H., Bryan N.S. 2011. Nitrite and nitrate: Cardiovascular risk-benefit and metabolic effect. *Current Opinion in Lipidology*, 22: 11-15
- Uredba (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. 2008. Uradni list Evropske unije, 51, L 354: 16-33
- Xiong Y.L. 2012. Nonmeat ingredients and additives. V: *Handbook of meat and meat processing*. Hui Y.X. (ed.). 2nd ed. Boca Raton, CRC Press: 573-588
- Young O.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
- Žlender B. 2017. Predelava mesa v mesnine – aditivi, ovitki, postopki razdevanja. Interno študijsko gradivo pri predmetu Tehnologije predelave mesa in mleka – meso.

UPORABA ADITIVOV V ŽIVILSTVU – MLEČNI IZDELKI

Andreja ČANŽEK MAJHENIČ¹

Povzetek: Prispevek obravnava aditive, ki se uporabljajo v mleku in mlečnih izdelkih ter njihove ključne tehnološke funkcije. Raba večine aditivov v mlekarstvu zagotavlja boljše tehnološke in senzorične lastnosti izdelka ter ohranjanja njegovo varnost in obstojnost. Nekateri aditivi pa so celo neobhodno potrebni za pravilen potek tehnološkega procesa. Tako kot v celotni živilski industriji, je tudi v mlekarstvu velika težnja po zmanjševanju vsebnosti oz. zamenjavi aditivov z naravnimi. Na tem mestu je potrebno omeniti sestavine mleka kot potencialne »clean label« aditive, predvsem hidrokoloidne in emulgatorje, saj so zelo cenjeni nadomestki za aditive.

Ključne besede: mleko, mlečni izdelki, aditiv, »clean label«

THE USE OF ADDITIVES IN FOOD INDUSTRY – DAIRY PRODUCTS

Abstract: Additives that are used in milk and milk products, along with their technological properties are discussed. Mostly, additives are used for providing better technological and sensory properties of the product, and to assure its safety and stability. Some additives are even indispensable for the proper functioning of the technological process. As in the entire food industry, also in the dairy sector, there is a great tendency to reduce the content or even to replace food additives with natural ones. Therefore mentioning the dairy ingredients as possible clean label additives is noteworthy, particularly hydrocolloids and emulsifiers, since they are highly appreciated alternatives for food additives.

Key words: milk, dairy products, additives, clean label

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje3, Domžale, e-mail: andreja.canzek@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Beseda aditiv ima pri ljudeh običajno negativno konotacijo, kar pa je pogosto neupravičeno, saj se aditivi uporabljajo pri pripravi živil iz najrazličnejših razlogov. Osnovni namen dodajanja aditivov je izboljšanje tehnoloških in senzoričnih lastnosti živila ter predvsem ohranjanje njegove varnosti in obstojnosti. Njihova raba je včasih celo neobhodno potrebna, saj kljub korektno izvedenemu tehnološkemu postopku priprave in obdelave živila še vedno dodatek aditiva potrošniku zagotovi tudi varno živilo. Prav zato je posploševanje strahu pred aditivi pri potrošnikih velikokrat neutemeljeno. Poleg tega so nekateri aditivi naravno prisotni v različnih okoljih in živilih, kot na primer lizocim, ki ga najdemo tako v slini in solzah kot jajčnem beljaku.

Po drugi strani pa drži, da niso vsi aditivi vedno potrebni oz. se jih dodaja v živila predvsem zaradi »kozmetičnega« učinka. V boju za potrošnika je živilska industrija iz dneva v dan soočena z izzivi ponudbe novih živil s še atraktivnejše izraženimi senzoričnimi lastnostmi od privlačnejših barv, enotne, kremaste in homogene konsistence, do ugodnega vonja in občutka prijetne polnosti v ustih. Pri tem je za doseg želenih učinkov uporaba aditivov najkrajša in najzanesljivejša pot, medtem ko je precej bolj zahtevna in neprimerno dražja kakršnakoli izboljšava tehnološkega postopka, na primer uporaba ekstraktov in drugih pripravkov sadja namesto umetnih barvil. Po drugi strani pa se je z globalizacijo svetovnega trga razmahnil transport živil z enega konca sveta na drugega, s čimer se je močno podaljšala pot transporta samega živila. Da se živilo na tej poti čimbolj ohrani, zahteva velike energijske vložke, bodisi v smislu hlajenja ali pakiranja v kontrolirano atmosfero, ali pa z uporabo aditivov preprečimo kvar in spremembe živila. Ker pa je na konkurenčnem svetovnem trgu običajno dana prednost najcenejši obliki konzerviranja živil, so aditivi zato najpogostejša izbira (Carocho in sod., 2015)

2 ADITIVI, ENCIMI IN AROME ZA ŽIVILA

Preden lahko proizvajalci uporabijo aditive v živilih, tudi mleku in mlečnih izdelkih, morajo le-ti ustrezati visokim varnostnim standardom, ki so odobreni s strani Evropske unije. Ko je uporaba določenega aditiva odobrena, sledi njegova registracija, kar pomeni, da se ga označi s črko E in številko. Ker je vseh registriranih aditivov danes prek 1700, brez barvil in encimov, so za lažjo preglednost razvrščeni v skupine (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011):

1. Barvila: E 100–180
2. Sladila: E 420–421, E 950–968
3. Aditivi, razen barvil in sladil:
 - a) Konzervansi: E 200–285, E 1105
 - b) Antioksidanti: E 300–392, E 586
 - c) Stabilizatorji, sredstva za zgoščevanje, emulgatorji: E 322, E 400–495, E 1103
 - d) ostali aditivi: sredstva proti sprijemanju, ojačevalci arom,..

2.1 ADITIVI ZA ŽIVILA

Krovni dokument, ki ureja področje aditivov v živilih, je Uredba (ES) št. 1333/2008 (2008) in je v uporabi od 20.1.2010. Dokument opredeljuje aditiv za živilo kot vsako snov, ki se običajno ne uživa kot živilo ter prav tako ne predstavlja značilne sestavine živila, ne glede na to, ali ima hranilno vrednost ali ne, se pa iz tehnoloških razlogov namensko dodaja živilu med proizvodnjo, predelavo, pripravo, obdelavo, pakiranjem, prevozom ali hrambo, ter pri tem neposredno/posredno postane ali lahko postane

sestavina živila kot taka ali kot stranski proizvod živila. EU seznam odobrenih aditivov za živila pa je bil vzpostavljen s sprejetjem Uredbe komisije (EU) št. 1129/2011.

2.1.1 Funkcijski razredi aditivov

Nabor aditivov, ki se uporabljajo v živilski industriji, vključno z mlekarским sektorjem, je izjemno pester in obsežen, med seboj pa se razlikujejo po glavnih tehnoloških funkcijah, ki jih imajo v živilih. Zato jih Priloga I Uredbe (ES) št. 1333/2008 zaradi lažje preglednosti razvršča v 26 funkcijskih razredov in sicer sladila, barvila, konzervansi, antioksidanti, nosilci, kisline, sredstva za uravnavanje kislosti, sredstva proti sprijemanju, sredstva proti penjenju, sredstva za povečanje prostornine, emulgatorji, emulgirne soli, utrjevalci, ojačevalci arome, sredstva za penjenje, želirna sredstva, sredstva za glaziranje, sredstva za ohranjanje vlage, modificirani škrobi, plini za pakiranje, potisni plini, sredstva za vzhajanje, veziva, stabilizatorji, sredstva za zgostitev ter sredstva za obdelavo moke. Pri tem pa uvrstitev aditiva za živila v funkcijski razred ne izključuje njegove uporabe za več funkcij. Na primer, natrijev hidrogen karbonat, imenovan tudi kot bikarbonat ali sodabikarbona z oznako E 500, je najbolj poznan kot sredstvo za vzhajanje, lahko pa se uporabi tudi kot sredstvo proti sprijemanju ali pa kot sredstvo za uravnavanje kislosti.

2.1.2 Nadzor in ocena varnosti aditivov

Varnost aditivov za živila presoja Znanstveni odbor za hrano (Scientific Committee on Food - SCF) in Evropska agencija za varnost hrane (European Food Safety Authority - EFSA). Samo tisti aditivi, za katere je predvidena uporaba varna, se smejo uporabljati v Evropski uniji (EU). Aditive za živila je potrebno stalno nadzorovati in jih po potrebi ponovno oceniti z vidika varnosti glede na spreminjajoče se pogoje uporabe in nove znanstvene podatke. Ker je bila varnost večine danes dovoljenih aditivov obravnavana že v 80-ih oz. 90-ih letih, nekaterih pa že v 70-ih letih, je bil edino smiseln ukrep, da se njihova varnost ponovno oceni, kar naj bi EFSA dokončala do leta 2020. Na podlagi priporočil, ki jih bo izdala EFSA, pa bo Evropska Komisija lahko predlagala ponovni pregled pogojev rabe določenih aditivov ter jih po potrebi dodala ali umaknila s seznama odobrenih aditivov za živila v EU. Eden takih primerov je bilo zmanjšanje sprejemljivega dnevnega vnosa (Acceptable Daily Intake – ADI) za tri barvila, E104, E 110 in E 124. Za slednja je EFSA ob ponovni oceni varnosti ugotovila previsoke vnose, kar je v začetku 2012 pripeljalo do zmanjšanja največjih dovoljenih količin teh barvil v živilih (EU Food additives, 2013).

2.1.3 Vrednotenje varnosti aditivov

Presoja varnosti aditiva se opravi na podlagi vloge opisa aditiva, ki ga EFSA prejme v obravnavo od prosilca oz. vlagatelja. Vloga mora vsebovati kemijsko identifikacijo aditiva, njegov proizvodni proces, metode analize, reakcije in poti v živilu, primere tehnološke rabe ter podatke o toksikologiji. Slednji morajo zaobsegati informacije o metabolizmu aditiva v organizmu, subkronični in kronični strupenosti, rakotvornosti, škodljivosti za genski material ter za razmnoževanje in razvoj ploda. Na podlagi nabora vseh informacij, EFSA določi ADI, ki je tista količina aditiva, ki ob vsakodnevnem zauživanju ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi. Ko EFSA vrednoti izpostavljenost aditivu, pri tem upošteva najvišjo vsebnost aditiva, ki jo je dovoljeno dodati v posamezno živilo in da gre za dnevno zauživanje te količine. Le v primeru, ko je ocenjena izpostavljenost nižja od ADI, EFSA predpostavi, da je aditiv varen. V kolikor pa izpostavljenost preseže ADI, pa komisija presodi o omejitvi ali celo prepovedi rabe aditiva (EU Food additives, 2013).

Poleg tega se vrednotenje varnosti aditivov običajno izvaja za vsak aditiv posebej in ne tudi v kombinacijah z drugimi aditivi, česar zaradi številčnosti aditivov praktično ni moč izvesti. Gardner in Lawrence (1993) sta že pred skoraj 25-imi leti opisala možnost nastanka kancerogenega benzena v živilih, posebej v gaziranih, kislih pijačah in sadnih sokovih, ki vsebujejo kombinacijo natrijevega benzoata (E 211), ki je sam po sebi praktično neškodljiv, in askorbinske kisline (E 300; vitamin C). Kovinski ioni, ki katalizirajo reakcijo nastanka benzena, naj bi prišli iz vode, ki se uporablja pri pripravi teh pijač. Čeprav avtorja poudarjata, da so količine tako nastalega benzena v pogojih, ki navadno vladajo v pijačah in živilih, izjemno nizke, pa hkrati vseeno opozarjata na previdnost pri kombiniranju nekaterih aditivov.

2.2 ENCIMI ZA ŽIVILA

Encimi so beljakovinske molekule, ki usmerjajo biokemijske reakcije in jih najdemo praktično povsod. Njihovo pridobivanje poteka z ekstrakcijo iz rastlin ali živali ali med fermentacijo iz mikroorganizmov. Živilom se dodajajo v tehnološke namene med proizvodnjo, predelavo, pripravo in obdelavo najrazličnejših živil kot na primer v industriji sadnih sokov, vinarstva, pivovarstva in sirarstva. Varnost nekaterih encimov za živila je do leta 2003 preverjala SCF, od takrat dalje pa EFSA (Enzymes, 2017).

Encime za živila obravnava Uredba (ES) št. 1332/2008 in je v veljavi od januarja 2010. Čeprav trenutno še ni EU seznama dovoljenih encimov za živila, pa vendar že nekaj časa potekajo aktivnosti za njegovo vzpostavitev. Tako so že zaključene prve aktivnosti, ko je bilo potrebno v obdobju od septembra 2011 do marca 2015 Komisiji podati vloge za encime. Zgolj popolni predlogi vlog za encime za živila so bili vpisani v register, za katere bo EFSA podala mnenje. Ker pa je Komisija v tem času prejela nekaj čez 300 vlog (Food enzyme applications submitted..., 2016), bo potrebno kar nekaj let, da bo za vse predlagane encime pretehtana njihova varnost in potrjena njihova uporabnost (EU List and Applications, 2017).

2.3 AROME ZA ŽIVILA

Aroma je izdelek, ki ni namenjen za prehrano, ampak se dodaja živilom z namenom, da mu izboljšajo ali spremenijo vonj in/ali okus. Zakonodaja (Uredba ES št. 1334/2008) razvršča arome v 6 kategorij in sicer aromatične snovi, aromatične pripravke, arome pridobljene s toplotnim procesom, arome dima, predhodnike arom in izvirne snovi. Razen za aromatične snovi (Izvedbena uredba komisije št. 872, Priloga A, 2012), EU seznam za preostalih 5 kategorij arom še niso vzpostavljeni.

3 MLEKO IN MLEČNI IZDELKI

Mleko je izloček mlečne žleze v času laktacije in je prva hrana novorojenega sesalca. Lahko ga opišemo kot najbolj popolno naravno hrano, ki ga, ne samo zaradi njegovih sestavin ampak tudi razmerij med njimi, umeščamo med nepogrešljive sestavne dele vsakodnevne in uravnotežene prehrane, saj z njegovim zauživanjem v telo vnašamo pestro paleto hranilnih snovi, vitaminov in mineralov. Kot tako je mleko gotovo primerna surovina za proizvodnjo najrazličnejših mlečnih izdelkov, ki so prav tako zdravi. Pa vendar se ob tem pojavljajo dvomi, saj vse več mlečnih izdelkov vsebuje najrazličnejše »nepotrebne« aditive, katerih dodajanje nima osnovnega namena podaljšanja obstojnosti izdelka ali zaščite potrošnika, temveč se jih dodaja predvsem zaradi »kozmetičnega učinka« spreminjanja oz. poudarjanja nekaterih lastnosti samega živila (polnejši okus, manjša energijska vrednost zaradi zamenjave sladkorjev s sladili,

atraktivnejši videz, barva, brez maščobe,...) z namenom narediti živilo privlačnejše za potrošnika. Prav nekritična dovzetnost potrošnikov za »kozmetično atraktivna« živila pa nehoti dodatno stimulira rabo aditivov ne samo v mlekarški ampak v celotni živilski industriji. Po drugi strani pa so ob vsej poplavi najrazličnejših informacij potrošniki tudi skeptični glede varnosti, potrebnosti in primernosti rabe aditivov v živilih. Enako kot velja za vsa ostala živila, morajo biti tudi aditivi, ki se uporabljajo v mlekarški industriji, odobreni in registrirani s strani EU. Potrebno pa je poudariti, da ne vsebujejo vsi mlečni izdelki aditivov, saj le-ti pri nekaterih niso potrebni oz. niso dovoljeni, medtem ko je pri drugih uporaba aditivov nujna, saj pogojujejo stabilnost in obstojnost izdelka.

3.1 ADITIVI V MLEKARSTVU

Čprav je raba aditiv v mlekarstvu regulirana s Codex Alimentarius (2011), pa lahko znotraj posamezne države vladajo še dodatni ukrepi oz. predpisi. Tako je na primer v EU raba barvil, sladil ter stabilizatorjev (natrijev in kalijev fosfat, askorbinska kislina, karagenan) sicer dovoljena v mlečnih izdelkih, ne pa tudi v maslu in nearomatiziranih fermentiranih mlečnih izdelkih, kjer je njihova raba prepovedana ali omejena. Prav tako je v mlečnih izdelkih omejena raba antioksidantov in konzervansov (Herr, 2011).

3.1.1 Barvila

Raba barvil v mlekarstvu je najbolj restriktivna za polnomastno, polposneto ali posneto mleko, pasterizirano ali sterilizirano (nearomatizirano), čokoladno mleko, fermentirano mleko (nearomatizirano), konzervirano mleko, pinjenec (nearomatiziran), smetano in smetano v prahu (nearomatizirano), zoren ter nezoren sir (nearomatiziran) ter maslo iz ovčjega in kozjega mleka, kjer prisotnost barvil za živila ni dovoljena (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011). Po drugi strani pa je za aromatizirane mlečne izdelke dovoljena raba nekaterih barvil v količini, potrebni za doseg želenega tehnološkega učinka oz. v količini *quantum satis*¹ (preglednica 1).

Preglednica 1: Barvila, dovoljena v aromatiziranih mlečnih izdelkih (Herr, 2011:34)

Barvilo	Količina
Riboflavin	
Klorofili, klorofilini	
Bakrovi kompleksi klorofilov in klorofilinov	
Karamel (navadni, alkalno sulfitni, amoniakalni, amoniakalno-sulfitni)	
Rastlinsko oglje	
Karoteni	<i>Quantum satis</i>
Ekstrakt paprike, kapsantin, kapsorubin	
Betalain, betanin	
Antocianini	
Kalcijev karbonat	
Titanov dioksid	
Železovi oksidi in hidroksidi	

Raba ostalih barvil, na primer anato, biksin, norbiksin, košenilja, karminska kislina, karmini, kurkumin, tartrazin, kinolinsko rumeno, oranžno FCF,... je v mlečnih izdelkih omejena in so najvišje dovoljene vsebnosti predpisane (Herr, 2011).

¹ Najvišja dovoljena vsebnost numerično ni določena, snov se uporablja v skladu z dobro proizvodno prakso in njena vsebnost ni višja od tiste, potrebne za doseg predvidenega namena (Uredba (ES) št. 1333/2008)

3.1.2 Sladila

Uporaba sladil namesto sladkorja je dovoljena v mlečnih izdelkih z znižano energijsko vrednostjo (najmanj za 30 % nižja v primerjavi z istovrstnimi živilami ali podobnimi izdelki) oz. brez dodanega sladkorja (brez dodanih mono- ali disaharidov oz. brez dodanega živila, ki vsebuje mono- ali disaharide). Sladila iz skupine poliolov (sorbitol, manitol, izomalt, maltitol, laktitol, ksilitol in eritritol) se v aromatizirane mlečne izdelke in sladoled lahko dodajajo v količini *quantum satis*, medtem ko so za acesulfam K, aspartam, saharin ter njegove natrijeve, kalijeve in kalcijeve soli, in neohesperidin največje dovoljene količine za dodajanje v aromatizirane mlečne izdelke in sladoled predpisane (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011).

3.1.3 Stabilizatorji, emulgatorji in sredstva za zgoščevanje

Hidrokoloidi

Hidrokoloidi ali gumiji so polimeri, ki imajo zaradi svoje sposobnosti tvorbe gelov in povečevanja viskoznosti vodnih raztopin vlogo stabilizatorjev in sredstev za zgoščevanje. Sodelujejo pri oblikovanju izgleda, teksture, stabilnosti in okusa. Večina hidrokoloidov je naravnega izvora in sicer rastlinskega (celuloza, karaja gumi, škrob, pektin, celuloza, guar gumi), iz alg (agar, karagenan, alginati), mikrobiološkega (ksantan gumi, dekstran) ter živalskega (želatina) (Krog, 2011). V mlekarstvu se za stabilizacijo in zgoščevanje fermentiranih mlečnih napitkov, mlečnih napitkov in desertov ter smetan in sladoleda najpogosteje uporabljajo alginati (natrijev, kalijev, amonije in kalcijev) ter propilen glikol alginat, agar, karagenan, celuloza, hemiceluloza iz soje in pektin. Uporaba teh aditivov je za vsak izdelek specifična, saj je odvisna tako od njegove kemijske sestave kot vrednosti pH (na primer morska alga *eucheuma* (E 407a) se uporablja predvsem pri izdelavi čokoladnega mleka; polisorbati (E 432-436) pri izdelavi sladoleda, mlečnih desertov ter nadomestkov mleka in smetane) (Herr, 2011).

Emulgatorji

Emulzije so zmesi tekočin, ki se med seboj ne mešajo in je ena dispergirana v drugi. Da so te mešanice stabilne, poskrbijo emulgatorji, ki so lahko naravnega izvora (proteini, fosfo- ali glikolipidi) ali sintetično pripravljeni. Proteini so amfifilne strukture, kar pomeni, da imajo tako hidrofilno kot lipofilno regijo. To velja tudi za proteine mleka, ki so zaradi stabilizacijskih lastnosti zelo cenjeni emulgatorji. V manjših količinah najdemo v mleku tudi fosfo- in glikolipide, ki spadajo med površinsko aktivne lipide v celični membrani živih organizmov. Sintetične emulgatorje pridobivamo v glavnem pri interesterifikaciji maščob in olj z glicerolom ali z neposredno esterifikacijo maščobnih kislin s poliolami. Sem spadajo mono- in diacilgliceroli, estri organskih kislin iz monoacilglicerolov ter drugi estri maščobnih kislin poliolov ali mlečne kisline. Emulgatorji se uporabljajo predvsem pri proizvodnji sladoleda, rekombiniranega mleka (rastlinska maščoba in posneto mleko v prahu), smetane za kavo, mlečnih desertov in rekombiniranega masla. Vloga emulgatorjev je predvsem podaljšanje roka obstojnosti emulzij ali izboljšanje stopenih emulzij z vidika časa stepanja, stabilnosti pene in kremavosti. Po drugi strani pa se emulgatorji uporabljajo tudi kot sredstvo za destabilizacijo tistih stopenih mlečnih emulzij, ki jih v nadaljevanju aeriramo do nastanka pene, na primer mešanice za sladoled. V tem primeru emulgator ne zagotavlja stabilnosti emulzije, ampak izboljšuje sposobnost vtepanja, stabilnost pene in kremavost. Za doseg optimalnega učinka pa se v mlečne emulzije običajno doda dva ali celo več različnih emulgatorjev (Krog, 2011).

Fosfati

Čeprav imajo monofosfati (natrijev, kalcijev) ter di-, tri- in polifosfati v mlekarstvu vlogo stabilizatorjev, pa se uporabljajo predvsem kot emulgirne soli oz. soli za topljenje pri proizvodnji topljenih sirov, pripravkov sirov in omak na osnovi sira (Herr, 2011).

3.1.4 Utrjevalci

Citronska kislina, kalcijev klorid in glukonodelta lakton se v sirarstvu uporabljajo kot utrjevalci za izboljšanje koagulacije in usirjanja mleka. Čeprav njihova najvišja dovoljena vsebnost ni določena, pa je njihova raba omejena le na določene sire (preglednica 2).

Preglednica 2: Raba utrjevalcev glede na sir (Herr, 2011:36)

Živilo	Aditiv	Najvišja dovoljena vsebnost
Zoreni siri	E 170 (kalcijev karbonat)	<i>Quantum satis</i>
	E 504 (magnezijev karbonat)	
	E 509 (kalcijev klorid)	
	E 575 (glukonodelta lakton)	
	E 500 (natrijev hidrogen karbonat)	
Mocarela in siri iz sirotke	E 270 (mlečna kislina)	<i>Quantum satis</i> (za sir iz kislega mleka)
	E 330 (citronska kislina)	
	E 575 (glukonodelta lakton)	
	E 260 (ocetna kislina)	

3.1.5 Konzervansi

Večina konzervansov, ki se uporablja v mlekarstvu, se uporablja v sirarstvu. Dovoljena je raba nitratov (natrijevega ali kalijevega) v količini do 150 mg/kg sira, dodamo pa ga lahko neposredno v mleko, namenjeno proizvodnji sira, ali enako vsebnost po odvzemu sirotke ter dodajanju vode oz. med pranjem sirnega zrna. Ostali dovoljeni konzervansi so še lizocim, nizin in heksametilen-tetramin ter natamicin in propionati za površinsko obdelavo sirov, pa tudi sorbati (sir, predpakiran, v rezinah, nezoren, topljen) in benzoati z/brez sorbatov (za toplotno neobdelane mlečne deserte) (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011).

3.1.6 Antioksidanti

V kolikor njihova raba v mlekarstvu ni izrecno prepovedana, so askorbati in tokoferoli najpogostejše uporabljeni antioksidanti v mlečnih izdelkih. Uporaba galatov, terc-butilhidrokinona (TBHQ) in butilhidroksianizola (BHA) pa je dovoljena izključno za mleko v prahu za prodajne avtomate (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011).

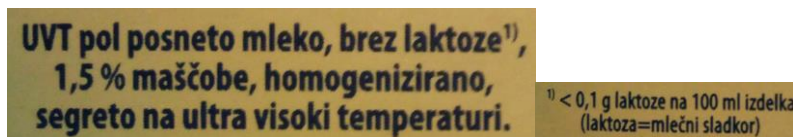
3.2 ADITIVI V POSAMEZNIH SKUPINAH MLEKA IN MLEČNIH IZDELKOV

Raba dovoljenih aditivov v posameznih skupinah mlečnih izdelkov je povzeta po Uredbi komisije (EU) št. 1129/2011 ter po Codex Alimentarius (2011).

3.2.1 Nearomatizirano pasterizirano in sterilizirano (vključno z UVT) mleko

Od odobrenih aditivov je dovoljen kot stabilizator natrijev citrat (E 331) v kozjem UVT mleku. Toplotna nestabilnost kozjega mleka po obdelavi z UVT se kaže v nastanku sedimenta, do katerega pride zaradi združevanja kazeinskih micel ob prisotnosti ionskega kalcija. Dodatek citratov močno omili pojav (Boumpa in sod., 2008). V steriliziranem in UVT mleku so dovoljeni. Zaradi težav pri laktozni intoleranci pa je trgu

moč dobiti tudi brezlaktozno mleko, ki je podvrženo hidrolizi s pomočjo encima laktaza (slika 1).

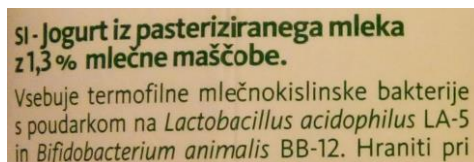


Slika 1: Brezlaktozno UVT mleko iz polposnetega mleka.

Na podlagi posnetega, polposnetega ali polnomastnega pasteriziranega/steriliziranega mleka, pinjenca in sirotke se izdelujejo **mlečne pijače**, ko so lahko dodani kakav, čokolada, kava, sadje, sladkor, arome, barvila, dovoljena pa je tudi raba stabilizatorjev oz. sredstev za zgoščevanje (karagenan (E 407), guar gumi (E 412)).

3.2.2 Nearomatizirani fermentirani mlečni izdelki, vključno z naravnim nearomatiziranim pinjencem (razen steriliziranega pinjenca), ki po fermentaciji niso toplotno obdelani

V tej skupini izdelkov se aditivi ne uporabljajo, v mleko so dodani zgolj tehnološki mikroorganizmi (termofilne, mezofilne starterske kulture), včasih pa tudi probiotične bakterije (slika 2). Za izdelke brez laktoze se dodaja laktaza.



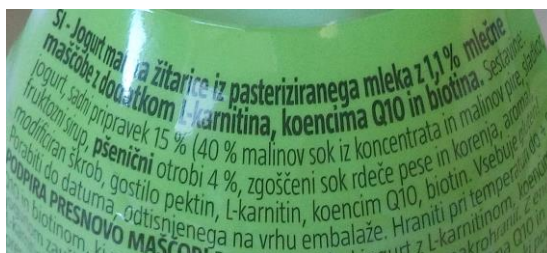
Slika 2: Nearomatiziran jogurt iz polposnetega mleka

V kolikor je dovoljeno z nacionalno zakonodajo, se v tej skupini izdelkov lahko uporabljajo stabilizatorji in sredstva za zgoščevanje, v mlečnih napitkih pa tudi ogljikov dioksid (E 290) (Codex Standard for Fermented Milks, 2011).

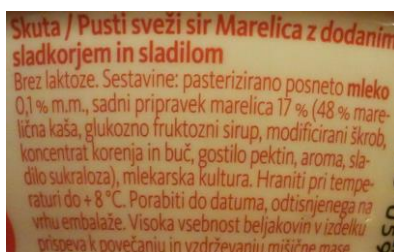
V primeru nearomatiziranih fermentiranih izdelkov, ki so po fermentaciji toplotno obdelani, pa je dovoljena raba aditivov skupine I, pri kislem mleku pa tudi sorbinska kislina-sorbat (E 200-203) (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011).

3.2.3 Aromatizirani fermentirani mlečni izdelki, vključno s toplotno obdelanimi

V to skupino sodijo najrazličnejši fermentirani izdelki na osnovi jogurta, kislega mleka, kefirja, skute ali smetane, najpogosteje sadnih ali mešanih sadno-zelenjavnih okusov, z dodatki žit in vlaknin, ki so ugodni za prebavo, različnih arom, sladil, primernih za diabetike, z dodatki, ki pomagajo pri presnovi maščob (slika 3) ali dodatki z visoko vsebnostjo beljakovin, ki pripomorejo k regeneraciji po vadbi (slika 4).

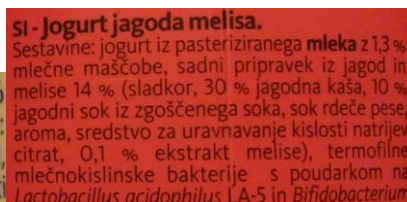
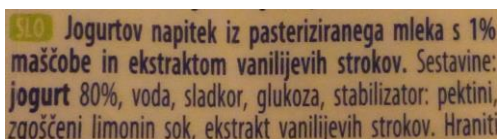


Slika 3: Sestava jogurtovega napitka z dodatki, ki podpirajo presnovno maščob



Slika 4: Sestavine aromatizirane skute iz posnetega mleka in z visoko vsebnostjo beljakovin

Glede na pestrost izdelkov v tej skupini, je tudi zastopanost dodanih aditivov z najrazličnejšimi funkcijami precej velika. Gre za uporabo sredstev za zgoščevanje, predvsem v izdelkih z znižano vsebnostjo/brez maščobe (slika 5-levo) in/ali dodanimi sladili (slika 4) ter za aditive, ki oblikujejo ali ojačajo okus in barvo ter uravnavajo kislost (slika 5-desno).



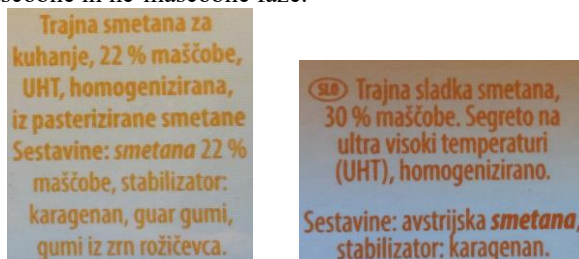
Slika 5: Sestavine aromatiziranega jogurtovega napitka (levo) in aromatiziranega jogurta (desno) izdelanih iz mleka z manj maščobe

Od sredstev za zgoščevanje so najpogostejše dodani modificirani škrobi (E 1414, 1420, 1422), pektin (E 440), guar gumi (E 412), gumi iz zrn rožičevca (E 410), karagenan (E 407). Od sladil so sicer dovoljeni polioli (E 420-421, E 953, E 965-968) in ostala sladila (E 950-955), najpogostejše pa so dodani acesulfam K (E 950), aspartam (E 951; v kolikor je dodan aspartam, mora biti na embalaži jasno zapisano opozorilo, da izdelek vsebuje vir fenilalanina) ter sukraloza (E 955). Od barvil so dovoljena vsa barvila pri *quantum satis* in barvila s kombiniranimi mejnimi vrednostmi (E 100-172), najpogostejše pa so dodani karameli (E 150), karoteni (E 160a), anato, biksin, norbiksin (E 160b), betalain, betanin (E 162), antociani (E 163), kurkumin (E 100), košenilja, karminska kislina in karmini (E 120). Kot sredstvo za uravnavanje kislosti pa se najpogostejše uporablja citronsko kislina in njene soli (E 330-333). Poleg tega je potrebno poudariti, da je v tej skupini tudi vedno več brezlaktoznih izdelkov, najdemo pa tu tudi izdelke z dodatki za povečanje prostornine, na primer dušika.

Prav zaradi pestrosti izdelkov te skupine, med katerimi najdemo že omenjene izdelke z dodano vrednostjo (napitki z manj sladkorja in manj maščob ter z drugimi zdravju koristnimi učinki - dodatek omega-3 maščobnih kislin, podpora presnovi maščob, prebavi, regeneraciji po vadbi), je morda pomembno, da nas ne zavede zgolj veliki tisk, ampak da izdelek pogledamo kot celoto, da poleg morebitne vsebnosti aditivov preverimo vse sestavine.

3.2.4 Smetana

Za nearomatizirano pasterizirano smetano je dovoljena raba stabilizatorjev oz. sredstev za zgoščevanje, kot so alginati (E 401-402), karagenan (E 407) in karboksimetil celuloza (E 466), ter emulgator mono- in digliceridi maščobnih kislin (E 471), ki preprečujejo razslojevanje maščobne in ne-maščobne faze.

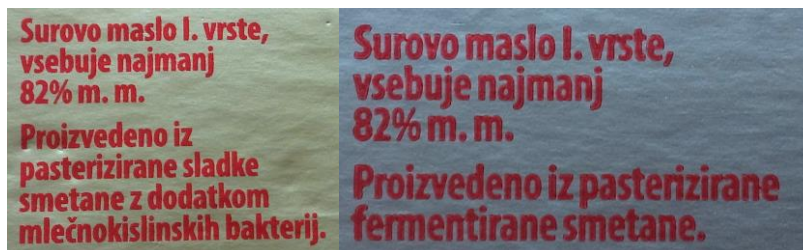


Slika 6: Dodatek karagenana, guar gumija in gumija iz zrn rožičevca UHT smetani za kuhanje (levo) in karagenana v UHT smetani za stepanje (desno)

Za nearomatizirane fermentirane izdelke iz smetane pa je nabor dovoljenih stabilizatorjev oz. sredstev za zgoščevanje in emulgatorjev razširjen (Uredba komisije (EU) št. 1129/2011).

3.2.5 Surovo maslo

V surovo maslo je dovoljeno dodajati zgolj karotene (E160a), razen v surovo maslo, izdelano iz kozjega in ovčjega mleka. V kolikor gre za surovo maslo izdelano iz kisle smetane, se sme dodati natrijeve karbonate (E 500) ter fosforjevo (V) kislino, fosfate in di- tri- in polifosfate (E 338-452). Slika 7 prikazuje sestavo surovega masla slovenskega proizvajalca, izdelanega iz sladke oz. fermentirane smetane, ki ne vsebuje dodatkov. Surovo maslo se lahko tudi soli, vendar pri nas to ni praksa.



Slika 7: Sestava surovega masla, proizvedenega iz pasterizirane sladke smetane z dodatkom MKB (levo) in surovega masla, proizvedenega iz pasterizirane in fermentirane (kisle) smetane

Stranski proizvod pri izdelavi surovega masla je **pinjenec**, ki je lahko nefermentiran ali fermentiran. Slednji se lahko pripravlja tudi kot aromatiziran, običajno z dodatkom sadnih pripravkov, arom in sredstev za zgoščevanje (pektin, modificiran škrob).

Poznamo tudi namaze na osnovi surovega masla, ko surovemu maslu primešamo jogurt ali pa mu dodamo rastlinsko olje.

3.2.6 Nezoreni siri

To so sveži siri, med katere sodijo skuta, kremni sir, zrnati sir (cottage cheese), maskarpone, mocarela, kuhani siri in albuminska skuta.

Za nearomatizirane fermentirane nezorene sire se, razen sorbinske kisline-sorbatov (E 200-203) ter fosforjeve (V) kisline, fosfatov in di- tri- in polifosfatov (E 338-452), aditivi ne uporabljajo. Pri aromatiziranih je dovoljena raba aditivov iz skupine *quantum satis*, barvil pri *quantum satis* in barvil s kombiniranimi mejnimi vrednostmi. Za mocarelo je dovoljena raba očetne (E 260), mlečne (E 270) in citronske (E 330) kisline ter glukonodelta laktone (E 575). V maskarpone je dovoljen dodatek nizina (E 234).

Namazi predstavljajo posebno skupino mlečnih izdelkov, ki jih izdelujemo z mešanjem osnovnih sestavin, kot so jogurt, skuta, smetana in maslo, z najrazličnejšimi drugimi sestavinami (začimbne mešanice, mešanice začimb in zelišč, zelenjavne mešanice, mesni izdelki, ribe, čokolada, lešniki, kava, sladkor) in se nato toplotno obdelajo. Da se v teh izdelkih zagotovi ustrezna konsistenca, je tu poseben poudarek na dodatku sredstev za zgoščevanje, kot so modificirani škrobi (E 1414, 1420, 1422), guar gumi (E 412), pektin (E 440), gumi iz zrn rožičevca (E 410), karagenan (E 407), jedilna želatina, fosforjeva (V) kislina, fosfati, di- tri- in polifosfati (E 338-452). Lahko se dodajo tudi ojačevalci arome glutamati (E 620-625), antioksidanti citrati (E 331) in barvila.

3.2.7 Zoreni siri

Med sire, ki zorijo, prištevamo zelo trde sire, trde sire, poltrde sir in mehke sire (siri s plesnijo na površini ali v testu, siri z rdečo maži, siri v slanici).

V tej skupini sirov sta nabor in raba dovoljenih aditivov relativno »skromna«, saj zaradi samega tehnološkega procesa niso potrebni, seveda ob predpostavki, da izdelujemo sir iz kakovostne osnovne surovine. Med najpomembnejše aditive sodijo kalcijev klorid (E 509), ki ima tehnološko funkcijo utrjevalca in izboljša sposobnost usirjanja, predvsem ko usirjamo toplotno obdelano mleko. Ker sta med zorenjem sira najpogostejši napaki zgodnje oz. pozno napihovanje sirov, je dovoljena raba konzervansov nitratov (E 251-252), ki pa jih vse več sirarn uspešno nadomešča z lizocimom (E 1105). Zelo zanimiv in dovoljen konzervans pa je tudi nizin (E 234), ki je protimikrobni peptid, imenovan bakteriocin in ga proizvajajo številni sevi bakterij iz rodu *Lactococcus*. Mlečna kislina (E 270) se v sirarstvu v glavnem uporablja kot sredstvo za uravnavanje kislosti slanice, v kateri poteka soljenje sirov. Med ostalimi dodatki je nepogrešljivo sirišče oz. encim himozin, ki je odgovoren za koagulacijo mleka, ustrezna starterska kultura, ki izpelje fermentacijo ter sol za pripravo slanice (slika 8), v kateri poteka soljenje sirov. Za površinsko obdelavo trdih in poltrdih sirov je dovoljen tudi konzervans natamicin (E 235). Pri izdelavi mehkih sirov s plesnijo uporabljamo še cepiva bele ali modre plesni.

POLTRDI MASTNI SIR TIPA TILZIT BREZ SKORJE • MIN. 53% SUHE SNOVI, MIN. 45% MAŠČOBE V SUHI SNOVI, PROIZVEDENO IZ PASTERIZIRANEGA MLEKA.
Sestavine: pasterizirano mleko, sirišče, sirarska kultura, jedilna sol, utrjevalec: kalcijev klorid, konzervans: lizocim (iz jajc)

Slika 8: Sestavine poltrdega tipa sira vrste tilzit.

Posebnost v tej skupini so nekateri siri, pri katerih se uporabljajo določena barvila, na primer rastlinsko oglje (E 153) za sir mobier, klorofili/klorofilini (E 140) in njihovi bakrovi kompleksi (E 141) za sir sage derby ter anato, biksin in norbiksin (E 160b) za sira leicester in mimolette. V kolikor imamo na rezine narezan ali nariban sir, je dovoljena raba sredstev proti sprijemanju, in sicer celuloza v prahu (E 469) ter silicijev dioksid-silikati (E 551-559).

3.2.8 Topljeni siri

Topljeni siri se izdelujejo z mletjem, mešanjem, topljenjem in emulgiranjem več vrst sirov s pomočjo toplotne obdelave in dodatkom soli za topljenje oz. emulgirnih soli. Od slednjih so dovoljeni natrijevi (E 339) in kalcijevi fosfati (E341) ter di- tri- in polifosfati (E 450-452). Obvezen dodatek osnovni masi sira je voda, ki zagotavlja normalen potek topljenja, saj omogoča raztapljanje soli ter disperzijo beljakovin. Med topljenjem je zelo pomembna tudi vrednost pH mešanice, ki se jo ustrezno zniža z dodatkom sredstev za uravnavanje kislosti iz skupine aditivov pri *quantum satis*, kot so očetna (E260), mlečna (E 270) in citronska kislina (E 330) ali natrijev karbonat (E 500). Osnovni masi topljenega sira se lahko dodajajo surovo maslo, smetana, mleko v prahu, kuhinjska sol, začimbe, sadje, zelenjava, mesni izdelki ter barvila pri *quantum satis* in barvila s kombiniranimi mejnimi vrednostmi (samo aromatiziran topljen sir), razen karotenov, izvlečka paprike in anato. Dovoljen je tudi dodatek konzervansa nizina (E 234).

3.2.9 Sladoledi

Sladoledi so zamrznjeni proizvodi, ki se proizvajajo na osnovi mleka, smetane ali vode in dodatkom raznih sestavin ter dodatkov za barvo, aromo in emulgiranje oz. stabilizacijo sistema. Po dodatku vseh osnovnih in dodatnih sestavin se v mešanico vpiha zrak ob istočasnem podhlajevanju. Od aditivov se sme uporabljati vse pri *quantum satis*, barvila pri *quantum satis*, barvila s kombiniranimi mejnimi vrednostmi ter anato, biksin, norbiksin (E 160b) in likopen (E 160d). Pri izdelkih z zmanjšano energijsko vrednostjo ali brez dodanega sladkorja pa so dovoljeni polioli, acesulfam K (E 950), aspartam (E 951), saharin (E 954), sukraloza (E 955), taumatin (E 957), neohesperidin (E 959), neotam (E 961) in sol aspartam-acesulfama (E 962). Izdelke stabilizirajo fosforjeva (V) kislina, fosfati in di- tri- in polifosfati (E 338-452), emulgirajo pa gumi kasijevca (E 427), polisorbati (E 432-436), saharozni estri maščobnih kislin (E 473), saharozni gliceridi (E 474), propan 1,2-diolni estri maščobnih kislin (E 477) in sorbitan estri (E 491-495).

3.3 SESTAVINE MLEKA KOT »CLEAN LABEL« ADITIVI

»Clean label« je priprava živil brez kemikalij in je eden zadnjih trendov v živilstvu. Razlage za »clean label« so, da je na izdelku podana jasna in preprosta navedba sestavin, da gre samo za naravne sestavine brez kemikalij ter umetnih barvil, arom in konzervansov, ki so minimalno obdelane/predelane. Pri tem predstavljajo sestavine mleka odlično možnost za »clean label« izdelke, saj imajo zaradi svoje sestave raznolike funkcije (Burrington, 2016).

Tako imajo proteini mleka lastnosti, ki omogočajo stepanje, emulgiranje, želiranje, sposobnost vezave vode, topnost in porjavenje. Funkcionalne lastnosti mlečne maščobe so stepanje, razslojevanje, specifičen okus in so vir v vodi topnih vitaminov. Laktoza je 60 % manj sladka kot saharoza, je humektant in skupaj s proteini sodeluje pri Maillardovi reakciji. Minerali mleka pa oblikujejo s kazeini mleka gele, kot sta sir in jogurt. Z razvojem tehnik sušenja in membranskih tehnik (ultrafiltracija, nanofiltracija, diafiltracija) je moč pripraviti posneto/polnomastno mleko v prahu ter pridobiti najrazličnejše frakcije mleka (koncentrate in izolate proteinov mleka, proteinov mlečnega seruma, laktozo, filtrate mleka in sirotke), ki zaradi svojih tehnoloških funkcij ustrezno nadomestijo hidrokoloidne, emulgatorje, škrobe, maslo pa je zamenjava za hidrogenirane rastlinske maščobe. Za mleko lahko rečemo, da je originalno »clean label« živilo, ki je brez dodatkov in s pasterizacijo minimalno obdelano. Kot sestavino ga uporabljamo za pripravo juh, omak, prelivov, piškotov, kruha, pudingov, slaščic in seveda sirov, fermentiranih izdelkov in sladoleda. Posneto mleko v prahu, koncentrat/izolat proteinov sirotke (whey protein concentrate/isolate-WPC/WPI), koncentrat/izolat proteinov mleka (milk protein concentrate/isolate-MPC/MPI) pripravimo s filtracijo, evaporacijo in sušenjem, torej s postopki fizičnega ločevanja, kar opredeli te pripravke kot »clean label« za uporabo v pekarstvu, mlekarstvu, proizvodnji pijač, desertov, juh in omak (Dairy solutions for..., 2016).

Polna in kremasta tekstura jogurta, izdelanega iz posnetega mleka, ki je zaradi odvzete maščobe navadno prazna in pusta, se običajno ohrani z dodajanjem škroba in hidrokoloidov. Kot alternativa za ohranjanje polnega okusa in kremaste teksture v jogurtih z manj maščobe se uporablja dodatek proteinov mlečnega seruma in proteinov pinjenca (Saffon in sod., 2013). Sestavine sirotke so izjemno cenjene kot »clean label« dodatki tudi v sladoledih, na primer WPC kot zamenjava za maščobo (Roland in sod., 1999) ali peptonska frakcija sirotke z WPC kot zamenjava za emulgatorje. Slednji so celo izboljšali lastnosti sladoledov v primerjavi s kontrolnimi sladoledi, izdelanimi z mono- in digliceridi kot emulgatorji (Innocente in sod., 2002).

4 POTROŠNIK IN ADITIVI V MLEKARSTVU

V mlekarstvu je kar precej mlečnih izdelkov, kjer so trajnost, varnost in kakovost zagotovljene s postopki toplotne obdelave v različnih časovno/temperaturnih režimih, z ustreznimi izpeljanimi postopki fermentacije ter z zagotavljanjem neprekinjene hladne verige, torej brez uporabe aditivov. Po drugi strani pa imamo tudi mlečne izdelke, kjer le raba aditivov lahko zagotovi njihovo kakovost in varnost, ali pa zagotovijo ustrezen potek tehnoloških postopkov. Kakovost in varnost mlečnih izdelkov, predvsem tistih, kjer osnovni surovini (jogurt, skuta, smetana, pinjenec) dodajamo najrazličnejše dodatke, lahko zagotovimo le z uporabo ustreznih aditivov, da nam vse sestavine ustrezno povežejo (vezanje vode, emulgiranje) in zaščitijo pred mikrobiološkim kvarom. Le v tem primeru ostane izdelek stabilen in ohrani čim boljše senzorične lastnosti do konca roka uporabe. Ob tem je potrebno poudariti, da so aditivi danes že največkrat sestavni del sadnih in zelenjavnih pripravkov, ki jih dodajamo osnovnim sestavinam.

So mleko in mlečni izdelki lahko vir pretiranega vnosa aditivov? Če pogledamo preglednico 3, ki prikazuje, koliko mleka in mlečnih izdelkov v povprečju zaužije prebivalec Slovenije, pri čemer je starostna struktura porabe mlečnih izdelkov raznolika, bi lahko rekli, da so te zaužite količine precej nizke, da bi bile lahko zaskrbljujoče za vnos aditivov. Priporočila kliničnih dietetikov so, da naj bi otroci od 2. do 8. leta dnevno

zaužili dve ter mladostniki in odrasli tri prehranske enote mleka (ena prehranska enota 2 dL mleka oz. fermentiranega mleka, 50 g skute ali 40 g sira).

Preglednica 3: Povprečna poraba mleka in mlečnih izdelkov na prebivalca v Sloveniji (GIZ, 2013)

Mlečni izdelek	Poraba na leto	Poraba na teden	Poraba na dan
Mleko (L)	53,0	1,00	0,140
Fermentirani izdelki (L)	20,0	0,38	0,050
Smetana (L)	6,0	0,11	0,010
Sir in skuta skupaj (kg)	15,0	0,29	0,040
Surovo maslo (kg)	1,7	0,03	0,004

Seveda je primerno, da pred nakupom mlečnega izdelka, ki ga še ne poznamo, temeljito preverimo, katere sestavine vsebuje in se po presoji odločimo za nakup. Seveda je morda boljša odločitev, da izberemo naravni jogurt ali skuto in si sami primešamo s sadje, oreščke, med..., ali pa primešamo malo surovega masla, kisle smetane, dodamo malo paprike, čebule, česna in okusen namaz je pripravljen. Ni pa vse samo na potrošnikih, da smo previdni pri zauživanju mlečnih izdelkov z aditivi, ampak so tudi rezultati raziskav stroke vse obetavnejši v smeri iskanja čimbolj naravnih dodatkov. Eden takih je gotovo inulin, ogljikov hidrat iz skupine fruktanov, ki ga zaradi njegove vsestranskosti vse pogosteje uporabljajo v sirarstvu kot prebiotik, kot nadomestek za maščobo in za oblikovanje teksture (Karimi in sod., 2015). Vedno več je raziskanih potencialnih naravnih aditivov iz skupin naravni antioksidanti, naravni konzervansi (bakteriocini, npr. reuterin), naravna barvila in naravna sladila (steviol glikozidi, glicirizin, taumatín) (Carocho in sod., 2015).

5 ZAKLJUČEK

V časih, ko so potrošniki vse bolj ozaveščeni o kakovosti živil, so v skrbi za zdravje vse glasnejše njihove zahteve po čimmanj predelanih, naravnih, lokalnih živilih, z zdravju pozitivnimi učinki, z znižano vsebnostjo/brez maščob, z znižano energijsko vrednostjo ter brez ali kvečjemu z naravnimi aditivi. Področje mleka in mlečnih izdelkov tu nikakor ni izjema, vse naštetu pa predstavlja velik izziv tako stroki kot industriji, da na čimbolj naraven način zadrži kakovost, varnost in senzorične lastnosti mlečnih izdelkov ter vse skupaj nadgradi s funkcionalnimi lastnostmi. Velik obet na tem področju so sestavine mleka kot »clean label« dodatki za pripravo »clean label« živil.

6 VIRI

- Boumpa T., Tsioulpas A., Grandison A.S., Lewis M.J. 2008. Effects of phosphates and citrate on sediment formation in UHT goats' milk. *Journal of Dairy Research*, 75: 160-166
- Burrington K.J. 2016. Dairy ingredients are a good solution for clean label products. American Dairy Products Institute.
https://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwioqq3Di-XTAhUJ1xoKHQ--CsYQFgggMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.adpi.org%2FPortals%2F0%2FCenter%2520of%2520Excellence%2520Articles%2FClean%2520Labels_March2016_Burrington.pdf&usg=AFQjCNFeJR1kv5FBIZ5dEQmu7sfNrlt9Hg (maj 2017)
- Carocho M., Morales P., Ferreira I.C.F.R. 2015. Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45: 284-295
- Codex Alimentarius. Milk and milk products. 2011. WHO/ FAO, 2nd ed., Rome: 1-245
- Codex Standard for Fermented milks. Codex Stan 243-2003. 2011. V: Milk and Milk products, 2nd ed. WHO/ FAO, Rome: 6-16.
<http://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwi52bmWstvTAhUJcRQKHwIABdIQFgggMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Fdocrep%2F015%2Fi2085e%2Fi2085e00.pdf&usg=AFQjCNEt75V3iVZiAPtO0D0k3IynxluZ8w> (april 2017)

- Dairy solutions for clean-label applications. 2016. Technical report. EU Dairy Council. http://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjhr4DuXTAhWNYRoKHfzRAR4QFggjMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.thinkusadairy.org%2Fresources-and-insights%2Fresources-and-insights%2Fapplication-and-technical-materials%2Ftechnical-report-dairy-solutions-for-clean-label-applications&usq=AFQjCNGV_uXM_zn0CtBFHLXrYJ3r1yBxqg (maj 2017)
- Enzymes. 2017. EC. https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/enzymes_en (maj 2017)
- EU Food Additives: making our food safer. 2013. European Commission. http://europa.eu/rapid/press-release_MEMO-13-480_en.htm
- EU list and Applications. 2017. EC. https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/enzymes/eu_list_app_en (maj 2017)
- Food enzyme applications submitted to the Commission within the legal deadline (from 11 September 2011 to 11 March 2015). 2016. EC. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_food-improvement-agents_enzymes-applications.pdf (april 2017)
- Gardner L.K., Lawrence G.D. 1993. Benzene production from decarboxylation of benzoic acid in the presence of ascorbic acid and a transition-metal catalyst. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(5):693-695
- GIZ Mlekarstva. 2013. Gradivo za medije, 12.11.2013: http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/Medijsko_sredisce/2013/11_November/12_TS_Z_DSH/GIZ_mlekarstvo_gradivo.docx (april 2017)
- Herr B. 2011. Additives in Dairy foods. Types and functions of additives in dairy products. V: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol.1. Fuquay J.W., Fox P.F., McSweeney P. (eds.), 2nd ed. Amsterdam, Academic Press: 34-40
- Innocente N., Comparin D., Corradini C. 2002. Proteose-peptone whey fraction as emulsifier in ice-cream preparation. *International Dairy Journal*, 2(1):69-74.
- Izvedbena uredba komisije (EU) št. 872/2012 z dne 1. oktobra 2012 o sprejetju seznama aromatičnih snovi iz Uredbe (ES) št. 2232/96 Evropskega parlamenta in Sveta, njegovi uveljavitvi v Prilogi I k Uredbi (ES) št. 1334/2008 Evropskega parlamenta in Sveta ter razveljavitvi Uredbe Komisije (ES) št. 1565/2000 in Odločbe Komisije 1999/217/ES. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:267:0001:0161:SL:PDF> (april 2017)
- Karimi R., Azizib M.H., Ghasemlou M., Vaziri M. 2015. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119:85-100
- Krog N. 2011. Additives in Dairy foods. Emulsifiers. V: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol.1. Fuquay J.W., Fox P.F., McSweeney P. (eds.), 2nd ed. Amsterdam, Academic Press: 61-71
- Roland A.M., Phillips L.G., Boor K.J. 1999. Effects of fat replacers on the sensory properties, color, melting, and hardness of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 82(10):2094-2100.
- Saffon M., Richard V., Jiménez-Flores R., Gauthier S.F., Britten M., Pouliot Y. 2013. Behavior of heat-denatured whey: buttermilk protein aggregates during the yogurt-making process and their influence on set-type yogurt properties. *Foods*, 2(4):444-459
- Uredba komisije (EU) št. 1129/2011 z dne 11. novembra 2011 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z vzpostavitvijo seznama Unije aditivov za živila. Uradni list Evropske unije, L295, 1-177: http://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwj-0d7m18HTAhXHxxQKHfVxAGAQFgggMAA&url=http%3A%2F%2Feur-lex.europa.eu%2FLEXUriServ%2FLEXUriServ.do%3Furi%3D0J%3AL%3A2011%3A295%3A0001%3A0177%3ASL%3APDF&usq=AFQjCNEFFQk_eJVmuC2kLJ0gEr375luMlqg (april 2017)
- UREDBA (ES) št. 1332/2008 evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o encimih za živila in spremembi Direktive Sveta 83/417/EGS, Uredbe Sveta (ES) št. 1493/1999, Direktive 2000/13/ES, Direktive Sveta 2001/112/ES in Uredbe (ES) št. 258/97: https://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiGsd2YmuXTAhXJthoKHRaaBIUQFggmMAE&url=http%3A%2F%2Fpublications.europa.eu%2Fresource%2Fcellar%2F599e3624-4ae5-44d1-a760-696b5d0c7759.0021.01%2FDOC_1&usq=AFQjCNGrUA5oMpxYR39jPitFqA-2B0yfw (april 2017)
- Uredba (ES) št. 1333/2008 evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. Uradni list Evropske unije, L 354/16,1-33: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&qid=1398328362975&from=SL> (april 2017)
- Uredba (ES) št. 1334/2008 evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o aromah in nekaterih sestavinah živil z aromatičnimi lastnostmi za uporabo v in na živilih ter spremembi Uredbe Sveta (EGS) št. 1601/91, uredb (ES) št. 2232/96 in (ES) št. 110/2008 ter Direktive 2000/13/ES. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1334&rid=5> (april 2017)

UPORABA ADITIVOV V ŽIVILSTVU – SADJE, ZELENJAVA IN PIJAČE

Tatjana KOŠMERL¹ in Rajko VIDRIH²

Povzetek: V zadnjem času je vedno večji interes za zamenjavo sintetičnih aditivov z ekstrakti ali spojinami naravnega izvora. Različna protimikrobna sredstva rastlinskega, živalskega ali bakterijskega porekla so bila testirana za uporabo v živilski industriji. Med rastlinskimi spojinami so karvakrol, evgenol in timol najbolj obširno proučevani v literaturi in vsi so dokazali svoj protimikroben potencial. Laktoferin, hitozan, lizocim in iz mleka pridobljeni peptidi so spojine živalskega izvora, ki prav tako vsi izkazujejo protibakterijske lastnosti. Zanimiva so tudi protimikrobna sredstva bakterijskega izvora, med katerimi sta najbolj temeljito proučena bactericin in reuterin. Posebno zanimivi pa so tudi nanodelci vseh zgoraj navedenih spojin, ki so vključeni v emulzijah, ki dokazano zmanjšujejo njihov protimikroben potencial.

Ključne besede: aditivi, rastlinska živila, ekstrakti, protimikrobna sredstva

USE OF ADDITIVES IN FOOD TECHNOLOGY – FRUITS, VEGETABLES AND BEVERAGES

Abstract: Recently there has been growing interest to replace synthetic additives with extracts or compounds of natural origin. Various antimicrobials of plant, animal or bacterial origins have been tested to be applied in food industry. Among plant compounds carvacrol, eugenol and thymol are the most extensively elaborated in literature, all proved their antimicrobial potential. Lactoferrin, chitosan, lysozyme and milk derived peptides are of animal origin, all show antibacterial properties. Interesting are also antimicrobials of bacterial origin, two most thoroughly studied are bactericin and reuterin. Of special interest are nanoparticles of all above mentioned compounds included in emulsions that attenuate their antimicrobial potential.

Key words: additive, plant food, extracts, antimicrobials

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

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

1 UVOD

Za dovoljenje za uporabo novega aditiva je potrebno običajno 10 let. Čeprav so vsi aditivi v uporabi testirani, se občasno pojavi sum, da je nek aditiv zdravju škodljiv. Uporabo aditivov povezujejo s hiperaktivnostjo vendar povezava ni bila nikoli dokazana. Zaradi omenjenih dejstev se iščejo naravni aditivi z namenom zamenjave sintetičnih aditivov.

Mikrobiološki kvar je največji vzrok kvara živil po drugi strani pa patogeni mikroorganizmi predstavljajo tveganje za zdravje ljudi in živali. Za preprečevanje mikrobiološkega kvara je v uporabi več načinov od inaktivacije mikroorganizmov s toplotno obdelavo do sodobnih pristopov, ki temeljijo na netermičnih metodah (Khan in sod., 2017). Uporaba konzervansov je poznana že dolgo časa, predvsem njihovo uspešno zaviranje razvoja mikroorganizmov. Danes se daje bistveno velik poudarek varnosti hrane, pa tudi senzorični kakovosti. Zaradi omenjenih dejstev je zanimiva uporaba tako imenovanega sistema ovir, kjer uporabimo več načinov preprečevanja rasti mikroorganizmov, skupni učinek na senzorične lastnosti pa je boljši (Khan in sod., 2017).

Izmed konzervansov sta najbolj poznana natrijev benzoat in kalijev sorbat, ki sta inhibitorja rasti mikroorganizmov. Čeprav se obe komponenti nahajata v obliki kisline ali ustreznih soli v nekaterih vrstah sadja, pa sta za potrebe živilske industrije proizvedeni sintetično. Uživanje omenjenih konzervansov predstavlja minimalno tveganje za zdravje, v literaturi se največkrat omenja genotoksičnost. Ker je mikrobiološki kvar največja težava za podaljšanje roka uporabe se intenzivno iščejo alternative v obliki čistih spojin ali ekstraktov naravnega izvora.

Natrijev benzoat je zelo pogosto uporabljen konzervans v živilski industriji zaradi ustreznih bakteriostatičnih in fungistatičnih lastnosti (Yadav in sod., 2016). Dovoljen dnevni vnos je 5 mg/kg telesne teže, v živilih je bila ugotovljena vsebnost celo do 2119 mg/kg (Dixit in sod., 2008). Kot poročajo Brahmachari in Pahan (2007), vpliva natrijev benzoat na regulacijo T-celic, kar oslabi imunski sistem in poveča dovzetnost za bolezni.

Zaradi omenjenih dejstev, se preiskujejo ustrezne spojine naravnega izvora, ki bi nadomestile ali vsaj zmanjšale do sedaj uporabljene koncentracije natrijevega benzoata in ostalih sintetičnih konzervansov.

Izmed naravnih protimikrobnih učinkovin se v literaturi najpogosteje omenjajo rastlinski izvlečki, stranski proizvodi pri predelavi rastlinskih živil, učinkovine živalskega ali bakterijskega izvora ter učinkovine pridobljene iz gob in alg (Gyawali in Ibrahim, 2014).

Na področju pridelave vina imamo v Pravilniku o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu (UL RS, 43/2004), v 6. točki opisane dovoljene tehnološke postopke in enološka sredstva.

V 7. členu 6. točke omenjenega pravilnika je zapisano:

1. Tehnološki postopki (v nadaljnjem besedilu: enološki postopki) in enološka sredstva so postopki in sredstva, s katerimi se zagotavlja pravilna vinifikacija in ohranitev pridelkov. Dovoljeni so pri predelavi, pridelavi, vinifikaciji, zorenju,

pripravi na stekleničenje in vstekleničenju vseh pridelkov. Enološke postopke lahko izvaja samo pridelovalec grozdja in vina, ki prijavlja pridelek v register.

2. Uporabljati se sme le predpisane enološke postopke in sredstva v predpisanem obsegu. Enološki postopki in sredstva se ne smejo uporabljati tako, da vplivajo negativno na zdravje ljudi oziroma na senzorične lastnosti pridelkov. Za posamezne pridelke in njihove posamezne kakovostne stopnje je lahko predpisan ožji izbor enoloških postopkov in sredstev oziroma dodatni pogoji za uporabo le-teh.
3. Čistost enoloških sredstev in aktivnih snovi mora biti v skladu s predpisi, ki urejajo enološka sredstva. Za posamezna enološka sredstva, za katera čistost ni predpisana s predpisi iz prejšnjega stavka, se uporabljajo določila Mednarodne organizacije za trto in vino (v nadaljnjem besedilu: OIV), katere članica je tudi Republika Slovenija.

Ker mogoče vsi ne poznamo omenjenih regulativ oziroma uredb Evropske unije (EU) in resolucij OIV, bodo le-te v nadaljevanju predstavljene. V Uredbi komisije EU, Commission Regulation (EC No. 1622/2000) z dne 24. julij 2000 je bil sprejet kodeks **Community code of oenological practices and processes**, kjer so predpisane omejitve in zahteve glede uporabe naslednjih substanc za enološke namene:

- PVPP,
- kalcijev tartrat,
- vinska kislina,
- β -glukanaza,
- mlečnokislinske bakterije,
- ionski izmenjevalci,
- kalijev ferocianid,
- kalcijev fitat,
- DL-vinska kislina, (L vinska kislina in njene soli s stališča čistosti obravnava tudi EC No. 2244/2002),
- uporaba elektrodialize,
- ureaze,
- dodatek kisika,
- omejitve in zahteve za vsebnost žveplovega dioksida (SO_2).

Kot dopolnitev preglednice 1 je v regulativi EC No. 1410/2003 (Aneks IV) dodana le ena vrstica, ki se nanaša na uporabo lizocima v moštu ali vinu v skupni količini, ki se sme presegati 500 mg/L.

Nadalje so v mednarodnem enološkem kodeksu (resolucije OENO iz leta 2000) zelo podrobno opisane bakteriološke in biološke lastnosti tehnoloških aditivov in dodatkov živalskega in rastlinskega izvora ter omejitve njihove uporabe. Kot primer hranil za kvasovke je v preglednici 2 prikazan njihov osnovni namen uporabe.

Preglednica 1: Omejitve uporabe določenih enoloških sredstev (Regulation (EC) No. 1493/1999, Annex IV; Vir: 2000R1622 - 17.5.2001, s. 23)

Sredstvo	uporaba ¹	uporaba ²
preparati celičnih sten kvasovk	40 g/hL	40 g/hL
ogljikov dioksid (CO ₂) ^a	/	max. v vinu 2 g/L
L-askorbinska kislina	/	150 mg/L
citronska kislina	/	max. v vinu 1 g/L
mezovinska (metavinska) kislina	/	100 mg/L
bakrov sulfat (CuSO ₄)	/	1 g/hL; max. v vinu 1 mg Cu/L
oglje za enološko uporabo	100 g/hL	100 g/hL
hranilne soli:	0,3 g/L	0,3 g/L
diamonijev hidrogenfosfat ali amonijev sulfat	(izraženo kot sol) ^b	(izraženo kot sol) ^b ; za pripravo penečih vin
amonijev sulfat ali amonijev bisulfat	0,2 g/L (izraženo kot sol) ^b	/
rastni faktorji:	0,6 mg/L	0,6 mg/L
tiamin v obliki tiamin hidroklorida	(izraženo kot tiamin)	(izraženo kot tiamin); za pripravo penečih vin
polivinilpolipirrolidon (PVPP)	80 g/hL	80 g/hL
kalcijev tartrat	/	200 g/hL
kalcijev fitat	/	8 g/hL

¹ uporaba v svežem grozdju, grozdnem moštu, vinskem moštu ali delno povretem grozdnem moštu, vinu v vrenju iz sušenega grozdja, zgoščenem grozdnem moštu in novem vinu, ki še vre;

² uporaba v grozdnem moštu za humano porabo, namiznem vinu, kakovostnem vinu, penečem vinu, biser vinu, gaziranem vinu, desertnem vinu in likerskem vinu;

^a kriterij čistosti sredstva mora biti v skladu z direktivo 96/77/EC (2. dec.1996), ki se nanaša na specifične kriterije čistosti prehranskih aditivov (OJ L 334, 9.12.1998, s.1);

^b sredstva se lahko uporabljajo tudi v kombinaciji do omejitve 0,3 g/L, ne glede na omejitev za posamezno sredstvo 0,2 g/L.

Preglednica 2: Pregled nekaterih sprejetih resolucij OIV v letu 2000

Resolucija	Dodatek	Formula Molska masa	Namen
13-2000	Amonijev klorid	NH ₄ Cl 53,50 g/mol	Aktivator fermentacije
14-2000	Amonijev hidrogensulfat	NH ₄ HSO ₃ 99,07 g/mol	Konzervans
15-2000	Diamonijev hidrogen fosfat (DAP)	(NH ₄) ₂ HPO ₄ 132,1 g/mol	Aktivator fermentacije
16-2000	Amonijev sulfat	(NH ₄) ₂ SO ₄ 132,10 g/mol	Aktivator fermentacije
50-2000	Tiamin hidroklorid	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS 337,3 g/mol	Pospeševalec fermentacije

2 RASTLINSKI IZVLEČKI

Miladi in sod. (2017) so preizkušali protibakterijsko učinkovitost karvakrola, timola in evgenola brez ali v kombinaciji z nalidiksinsko kislino v poizkusih z 12 sevi bakterije *Salmonella typhimurium*. Vse tri spojine so inducirale morfološke spremembe na površini celic bakterij. Kot najuspešnejša spojina se je pokazal timol, sledita evgenol in karvakrol.

Za vse substance, ki se dodajajo živilom, je potrebno opraviti analize genotoksičnosti, kot to zahteva evropski urad za varnost hrane. Avtorji Llana-Ruiz-Cabello in sod. (2016) so opravili teste na genotoksičnost karvakrola. V testih s podganami so ugotovili, da

dodatek karvakrola v hrano za podgane v količini 81 do 810 mg/kg telesne teže ne inducira *in vivo* genotoksičnosti niti oksidativne poškodbe DNK v kateremkoli proučevanem tkivu. Ravno tako testi niso pokazali histopatoloških sprememb.

3 STRANSKI PROIZVODI PRI PREDELAVI SADJA IN ZELENJAVE

V živilski industriji imamo danes na voljo veliko ostankov po stiskanju, ekstrakciji ali drugih načinih predelave. Stranski produkti, ki se najpogosteje omenjajo so jabolčne tropine ali jabolčni olupki, olupek granatnega jabolka, olupek kutine, grozdne tropine, paradižnikova semena, semena manga, lupina, semena in pulpa citrusov, lupina paradižnika, ostanki pri proizvodnji zelenega čaja, lupina užitnega kostanja in kakija, ostanek po stiskanju olj ter nekateri drugi ostanki (Gyawali in Ibrahim, 2014). Ekstrakti omenjenih stranskih proizvodov vsebujejo predvsem fenolne spojine, tanine, klorogensko, kavno in galno kislino, flavonoide in stilbene, tokoferole, karotenoide, maščobne kisline in druge. Omenjene spojine imajo protimikrobni učinek proti celemu spektru mikroorganizmov rodov *Bacillus*, *Stafilococcus*, ter proti patogenom rodov *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* in drugi (Gyawali in Ibrahim, 2014).

Ekstrakt lupine granatnega jabolka kaže močno protimikrobno delovanje (Kanatt in sod., 2010). Dodatek ekstrakta piščančjemu mesu v količini 0,1% je zmanjšal skupno število mikroorganizmov, koliformnih mikroorganizmov in *S. aureus* ter podaljšal življenjsko dobo za 2-3 tedne. Ekstrakt lupine granatnega jabolka deluje tudi proti oksidativni žarkosti v proizvodih s piščančjim mesom (Kanatt in sod., 2010). Ekstrakt lupine granatnega jabolka s koncentracijo 7,5% je ob dodatku 24,7 mg/g inhibiral *L. monocytogenes* za 4,1 log (Hayrapetyan in sod., 2012).

4 UČINKOVINE S PROTIMIKROBNIM DELOVANJEM ŽIVALSKEGA IZVORA

V to skupino uvrščamo glikoproteine, polikationske biopolimere, lipide (eikozapentaenojsko kislino, dokozaheksaenojska kislina), kationske peptide, glutaminsko kislino, bioaktivni peptidi itd. (Gyawali in Ibrahim, 2014). Omenjene spojine delujejo proti širokemu spektru mikroorganizmov rodov *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Stafilococcus* ter patogenim mikroorganizmom *Escherichia*, *Listeria*, *Salmonella*, itd.

4.1 LAKTOFERIN

Laktoferin je glikoprotein iz mleka in ima široko protimikrobno delovanje proti bakterijam in virusom. V mesni industriji je njegova uporaba dovoljena za več vrst izdelkov (Juneja in sod., 2012). Laktoferin naj bi tvoril kelate z železom, kar povzroči pomanjkanje železa in zavira rast mikrobov (González-Chávez in sod., 2009). Kot poročajo Gyawali in Ibrahim (2012) laktoferin prispeva železo za rast *Bifidobacterium* spp. kar v pogojih pomanjkanja mineralov ustvari okolje, ki zavira razvoj patogenih mikroorganizmov. Al-Nabulsi in sod. (2009) so ugotovili zmanjšanje *Cronobacter* spp. za log 4.

4.2 HITOZAN

Hitozan je polikationski biopolimer za katerega uporabo vlada veliko zanimanje (Gyawali in Ibrahim, 2014). Je naravnega izvora, nahaja se v skeletu rakov. V nevtralnem ali rahlo bazičnem mediju je netopen kar zmanjšuje njegovo uporabo.

Topnost hitozana so izboljšali preko derivatizacije s pomočjo Maillardove reakcije (Chung in sod., 2011) ali z N-alkilacijo hitozan disaharida (Yang in sod., 2005). Učinek hitozana je večji na Gram pozitivne bakterije. Način delovanja hitozana povezujejo s spremembami na celičnih stenah mikroorganizmov, kar privede do prepustnosti stene. Hitozan se je pokazal posebno učinkovit pri podaljšanju obstojnosti ostrig iz 8 dni na 15 dni (Gyawali in Ibrahim, 2014).

4.3 LIZOCIM

Lizocim je naravno prisoten v jajcih in mleku sesalcev ter velja za varnega pri uporabi v živilski industriji. Funkcionalno je bakteriolitični encim, ki cepi β -1,4 vezi med N-acetil glukozaminom in N-acetil muramsko kislino (Juneja in sod., 2012). Celična stena Gram-pozitivnih bakterij je sestavljena iz peptidoglukana, ki je občutljiv na lizocim, Gram-negativne bakterije pa so zaradi drugače zgrajene celične stene odporne. Predvsem se uporablja za zaščito sirov pred napihovanjem kot posledico delovanja *Clostridium tyrobutyricum* (Gyawali in Ibrahim, 2014).

Tudi na področju vinarstva je razširjena uporaba ne le lizocima kot inhibitorja bakterijske rasti (ki je omejena na Gram-pozitivne mlečnokislinske bakterije), ampak vedno bolj tudi manoproteinov kvasovk z namenom doseganja stabilnosti belih vin na termolabilne beljakovine in tartratne stabilnosti (preglednica 3).

Preglednica 3: Primerjava dveh sprejetih resolucij OIV v letu 2001

Resolucija	Dodatek	Izvor	Namen
4-2001	Manoproteini	Celične stene kvasovk	Stabilizator belih vin (beljakovine, tartrati)
15-2001	Lizocim Sinonim: Muramidase N°SIN: 1105 (enzyme 3.2.1.17)	Jajčni beljak	Inhibitor bakterijske rasti (hidroliza celičnih sten gram pozitivnih bakterij)

Ne glede na aditiv ali procesno sredstvo, ki ga v vinarstvu imenujemo enološko sredstvo, je značilna omejitev njegovega dodatka v največjih količinah (preglednica 4). Z ozirom na njihovo funkcijo v enologiji predstavljajo čistilna sredstva eno izmed devetih skupin enoloških sredstev oziroma aditivov:

1. čistilna sredstva,
2. sredstva za fermentacijo,
3. sredstva s protimikrobnim učinkom,
4. sredstva za zaščito pred oksidacijo (antioksidanti),
5. sredstva za povečanje kislosti,
6. sredstva za zmanjšanje kislosti (kemijski razkis),
7. sredstva za povečanje sladkosti,
8. sredstva za odstranjevanje neprijetnih vonjev,
9. sredstva za stabilizacijo (na vinski kamen, na termolabilne beljakovine, na kovine).

Preglednica 4: Največje dovoljene količine uporabljenih enoloških sredstev (International Code of Oenological Practices; Vir: O.I.V. Code Sheet - Edition 12/1999)

Sredstvo	Količina
amonijev sulfat	0,3 g/L
askorbinska kislina	100 mg/L
avtolizirane kvasne celice	40 g/hL
bakrov sulfat	1 g/hL
diamonijev fosfat	0,3 g/L
gumiarabika	0,3 g/L
kalcijev tartrat	200 g/L
lizocim*	500 mg/L
mezovinska (metavinska) kislina	10 g/hL
oglj	100 g/hL
PVPP	80 g/hL
sorbinska kislina	200 mg/L
tiamin	60 mg/hL
tiamin hidroklorid	0,6 mg/L

* dodatek lizocima v količini 500 mg/L predpisuje tudi EU v regulativi EC No. 2066/2001

Tudi z zdravstvena stališča pomembne in nezanemarljive spojine vina obravnava OIV redno na svojih letnih skupščinah. Če omenimo le biogene amine (OENO 4/97), etil karbamat (OENO 8/99), ki ga imamo po novem dovoljenega v vinu do 15 µg/L, nadalje zmanjšanje vsebnosti ohratoksina A v vinu od trgatve letnika 2005 dalje na največ 2 µg/L (OENO 1/2002), in še bi lahko naštevati.

Večkrat je bila že izražena potreba o (nujni) kontroli enoloških sredstev, kljub temu pa je bilo opravljenih izredno majhno število analiz o čistosti in/ali učinkovitosti enoloških sredstev v prometu. Ta je sicer predpisana in sicer: splošne bakteriološke in biološke zahteve enoloških aditivov živalskega in rastlinskega izvora, vključno z omejitvami njihove vsebnosti glede na Mednarodni enološki kodeks OIV (resolucije OENO). Za posamezna enološka sredstva je podrobno predpisan izvor, namen uporabe, označevanje, lastnosti in značilnosti, topnost, čistost, testi, kvantitativna analiza in pogoji skladiščenja. Vemo, da za enološka sredstva ne velja Codex Alimentarius, temveč oba veljavna enološka kodeksa. Nesporno je, da moramo glede na obseg sprejetih resolucij upoštevati pri eventualnih kontrolah čistosti enoloških sredstev predvsem resolucije OIV, kjer so poleg vsebnosti npr. kemijskih kontaminantov (npr. arzen) predpisane tudi metode za njihovo določanje (na samo v sredstvih, temveč tudi v vinu, kjer je njihova vsebnost omejena). Samo v letu 2002 je bilo sprejetih na tem področju 5 resolucij (OENO 8-12/2002), v letu 2003 pa nadaljnjih 7 (OENO 10-16/2003). Mogoče bi kazalo nekoliko podrobneje proučiti Enološka kodeksa kemijske in mikrobiološke sekcije v povezavi z analitiko in kontrolo. (OENO 17 in 18/2003). Verjetno slednja, t.j. mikrobiološka analitika za nas ni preveč aktualna, tudi glede na izvajanje našega pravilnika o postopku in načinu ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina (UL RS 32/2000), ko naj bi po letu 2002 pri kakovostnih in posebnih vinih izvajali tudi naslednji analizi: obnašanje na mrazu ter - obnašanje v inkubatorju - mikrobiološki preizkus. Tudi najnovejša publikacija Evropske unije (CONSLEG: 1999R1493) z dne 01.05.2004 na 75 straneh navaja spisek potrebnih analiz vina po naslednjem vrstnem redu: obnašanje vina (na zraku, na mrazu), mikrobiološki testi (obnašanje v inkubatorju, videz vina in usedline), sledijo fizikalne in kemijske analize ter nazadnje dodatne analize.

4.4 PROTEINI MLEKA

Proteini mleka kot so kazein in proteini sirotke posedujejo multifunkcionalne lastnosti vključno s protimikrobno aktivnostjo (Phelan in sod.. 2009). Kazein predstavlja 80 % mlečnih proteinov in je bogat vir bioaktivnih peptidov, ki delujejo proti patogenim

mikroorganizmom kot so *E. coli*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, kvasovke in plesni (Fadaei, 2012). S hidrolizo frakcij kazeina s himozinom dobimo kasodigin, ki deluje proti *Staphylococcus* spp., *Sarcina* spp., *B. subtilis*, *Diplococcus pneumoniae* (Szwajkowska in sod., 2011).

Mogoče kaže na koncu omeniti tudi potrebo po označevanju aditivov oz. dovoljenih uporabljenih enoloških sredstev kot alergenov oziroma alergenih snovi, ki so v našem primeru vina poleg SO₂ (nad 10 mg/kg) vezane še na naslednja čistilna sredstva:

- kazein ali kalijev kazeinat,
- jajčni beljak (vključno z lizocimom),
- mleko ali evaporirano mleko,
- ribji mehur,
- tanini (ki nimajo izvora v grozdju).

Prisotnost zgoraj naštetih alergenov sporočajo naslednji piktogrami na sliki 1.



Slika 1: Označevanje alergenov v vinu (Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 579/2012 z dne 29.06.2012)

Najnovejši zapisi, ki prihajajo s strani OIV (2016a), za bistrenje dovoljujejo želatino, albumin in jajčni beljak, posneto mleko, kazein, alginat, koloidno raztopino silicijevega dioksida, kaolin, kalijev kazeinat, proteine rastlinskega izvora, hitozan, hitin-glukan in beljakovinske ekstrakte kvasa (t.i. manoproteine), OIV (2016b) pa opisuje metodologijo dela in njihovo uporabo.

Rezultati poskusov so pokazali s 95 % verjetnostjo, da 90 % potrošnikov, ki so alergični na ribe, ne bo imelo reakcijskega odziva ob zaužitju skupne količine 3,61 g ribje želatine (Hansen in sod., 2004). Podobno tudi Kirschner in sod. (2009) v svojem dvojno slepem, s placebom kontroliranim poskusu ugotavljajo, da niti ena oseba izmed vseh, ki so sicer alergične na ribe, ni imela reakcijskega odziva po uporabi ribje želatine kot čistilnega sredstva v pridelavi vina. Glede na omenjeni dve in številne druge študije pa EFSA v uradnih znanstvenih mnenjih podaja zaključke, da kazein/kazeinat/krajnje mleko (EFSA, 2011a), ovalbumin/jajce (EFSA, 2011b) in lizocim (EFSA, 2011c), lahko izzovejo alergijske reakcije pri občutljivih in alergičnih potrošnikih. Kampanje ozaveščanja potrošnikov bi bile po mnenju Vassilopoulou in sod. (2011) bolj primerne, kot obvezne označbe za alergene na vinskih etiketah.

Merila za metode določanja potencialno alergenih ostankov sredstev za bistrenje vin določa Resolucija OIV-OENO 427-2010, ki kot primerne izpostavlja različne metode ELISA (OIV, 2010), pri čemer je določena meja detekcije pri največ 0,25 mg/L.

Označevanje aditivov na vinskih etiketah je v Avstraliji in na Novi Zelandiji ter na Japonskem obvezno od leta 2002, v ZDA od leta 2004 in v EU ter Kanadi od 2012. Obvezno označevanje ribje želatine ali želatine iz ribjih mehurjev, ki se uporablja kot

sredstvo za bistenje vina v EU (Uredba (EU) št. 1169/2011), v Avstraliji in v Novi Zelandiji ni predpisano.

Na označbi mora biti ne glede na vol. % alkohola vedno navedena količina skupnega žvepla kot identificiranega alergena, navaja ZVin (2006). Vsebnost žvepla v vinu se na označbi navaja z besedilom »vsebuje sulfite« ali »vsebuje žveplov dioksid« v kolikor je koncentracija večja od 10 mg/l glede na skupni SO₂ (Janice, 2010; OIV, 2015). Označba se lahko nahaja izven glavne etikete (Uredba Komisije (ES) št. 607/2009; Pravilnik o označevanju ..., 2010).

Skladno z Uredbo (EU) št. 1169/2011 se navajanje uporabljenih tehnoloških aditivov na označbi lahko opusti, če se ti v končnem izdelku ne nahajajo. Evropski regulator pa je v sodelovanju s strokovno agencijo EFSA v naslednjem koraku zahteval tudi označevanje oziroma navajanje ostankov pomožnih tehnoloških sredstev, ki so po končani pridelavi ostala v vinu (Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 579/2012; Richter, 2013).

Vsa vina morajo biti označena s katerimi aditivi so bila obdelana, v kolikor so ostanki le teh prisotni v končnem izdelku. Mleko in izdelki iz mleka se lahko označuje kot »mleko«, »proizvod iz mleka«, »mlečni kazein« ali »mlečne beljakovine«. Jajca in proizvode iz jajc pa z »jajce«, »jajčne beljakovine«, »proizvod iz jajc«, »jajčni lizocim« ali »jajčni albumin« (Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 579/2012) Namesto besedila se za prikaz lahko uporabi tudi piktograme (slika 1).

5 PROTIMIKROBI BAKTERIJSKEGA POREKLA

Mlečnokislinske bakterije proizvajajo več spojin s protimikrobno učinkovitostjo. Najbolj so raziskane proteinske spojine bakteriocini, izmed katerih je najbolj poznan nizin. Revterin je še ena od spojin s protimikrobnim učinkom, ki jo proizvajajo sevi *Lactobacillus reuteri*. Obe spojini sta naravnega izvora in zaradi tega zanimivi v sodobnem trendu iskanja naravi prijaznih tehnologij.

5.1 BAKTERIOCINI

Nizin je edini bakteriocin, ki je dovoljen v več kot 50 državah. Aktiven je proti Gram-pozitivnih bakterijah in tudi proti tistim, ki tvorijo spore. Deluje tako, da razgradi citoplazmatsko membrano kar privede do puščanja intracelularnih metabolitov (Lucera in sod., 2012). Pediocin je še eden od skupine baktericinov, ki ga proizvajajo sevi mlečnokislinskih bakterij rodu *Pediococcus* spp.. Uporablja se ga za zaščito zelenjave in mesa njegova prednost je, da je termostabilen v širokem območju vrednosti pH. Deluje proti kvarljivcem in patogenim mikroorganizmom, kot so bakterije vrst *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *S. aureus* in *Clostridium perfringens* (Juneja in sod., 2012).

5.2 REVTERIN

Revterin je kemijsko β-hidroksipropionaldehid s širokim spektrom delovanja proti kvarljivcem in patogenim bakterijam, deluje protimikrobno proti Gram-negativnim in Gram-pozitivnim bakterijam. V študiji mletega svinjskega mesa je revterin pri koncentraciji 100 AU/g po enem dnevu skladiščenja znižal *E. coli* 157 za log 5 in po 7 dneh skladiščenja pri + 7°C za log 3 *L. monocytogenes*. Arqués in sod. (2011) so v študiji na mleku, mlečnih izdelkih in mesu ugotovili večjo protimikrobno učinkovitost pri Gram-negativnih bakterijah. Način delovanja pripisujejo aldehydni skupini, ki

povzroči oksidativni stres in spremembe na tiolnih skupinah proteinov (Langa in sod., 2013).

6 UPORABA NANOEMULZIJ ESENCIALNIH OLJ

Nanotehnologija je veda, ki se hitro razvija in je našla mesto na mnogih področjih, tudi v živilski tehnologiji. Vključevanje esencialnih olj predstavlja dokajšen izziv hidrofobne narave esencialnih olj, ki se ne mešajo z vodo. Esencialna olja predstavljajo hlapne in nehlapne spojine med katere spadajo alkaloidi, flavonoidi, izoflavoni, monoterpeni, fenolne kisline, karotenoidi in aldehidi (Seow in sod., 2014). Izmed več kot 3000 identificiranih, jih je okrog 300 zanimivih v komercialne namene (Dima in Dima, 2015). Večina esencialnih olj ima izrazit vonj in okus, ki imata močan vpliv na živilo kar predstavlja resen izziv pri uporabi. Zaradi navedenih razlogov je potrebno esencialna olja enkapsulirati v nosilce iz katerih se sproščajo in so kompatibilni s proizvodom. Nanoemulzije olje-voda so sestavljene iz kapljic olja velikosti od 20 do 200 nm, razpršene v vodnem mediju, in stabilizirane z emulgatorjem (Donsi in Ferrari, 2016). Emulgatorji, ki se aplicirajo v živilih, vključujejo: polisorbate, sladkorne estre ter lecitin ali biopolimere kot so naravne gume, rastlinski ali živalski proteini in modificirani škrobi. Omenjene spojine ne delujejo samo kot emulgatorji, ampak dajo nanoemulzijam tudi nekaj zaželenih lastnosti, kot so specifične površinske lastnosti (elektrostatske sile, reološke lastnosti, sterični odboj) in ustrezen odziv na strese iz okolja (Donsi in Ferrari, 2016).

Tastan in sod. (2016), so preizkušali uporabo modificiranega hitozana z nanoemulzijo karvakrola. Ugotovili so večjo protimikrobno učinkovitost hitozana z nanoemulzijo v primerjavi s samim hitozanom, ohranila se je površinska hidrofobnost in nanoemulzija hitozana je imela minimalni vpliv na izgled filma.

Sow in sod. (2017) so preizkušali nanoemulzijo karvakrola 3,5 % (1,0 % karvakrol, 2,5 % koruzno olje) in 3,5 % monooleata (Twin 80) v kombinaciji z elektrolizirano vodo na rezanem zelju. Postopek je zmanjšal število aerobnih mezofilnih bakterij za log 0,5. Nanoemulzija karvakrola in elektrolizirane vode je obdržala protimikrobno učinkovitost 2 dni.

7 ZAKLJUČEK

Mogoče se bomo le zamislili in ugotovili, da se ne priporoča v vseh primerih obdelava mošta in vina z enološkimi sredstvi, da je v praksi količinska poraba le-teh prevelika preveč in pogosto nepotrebna ter nenazadnje dejstvo, da se s stopnjevanjem kakovosti vina lahko v veliki meri obratno sorazmerno zmanjšuje uporaba enoloških sredstev.

8 VIRI

- Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Al-Holy, M. A., Shaker, R. R., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Holley, R. A., 2009. Influence of desiccation on the sensitivity of *Cronobacter* spp. to lactoferrin or nisin in broth and powdered infant formula. *International journal of food microbiology*, 136: 221-226
- Arqués, J. L., Rodríguez, E., Nuñez, M., Medina, M., 2011. Combined effect of reuterin and lactic acid bacteria bacteriocins on the inactivation of food-borne pathogens in milk. *Food Control*, 22: 457-461
- Brahmachari, S., Pahan, K., 2007. Sodium benzoate, a food additive and a metabolite of cinnamon, modifies T cells at multiple steps and inhibits adoptive transfer of experimental allergic encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 179: 275-283
- Chung, Y.-C., Yeh, J.-Y., Tsai, C.-F., 2011. Antibacterial characteristics and activity of water-soluble chitosan derivatives prepared by the Maillard reaction. *Molecules*, 16: 8504-8514
- CONSLEG: 1999R1493 – 01/05/2004. Consolidated text produced by the CONSLEG system of the Office for Official Publications of the European Communities: 94 str.

- Dima, C., Dima, S., 2015. Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5: 29-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.003>
- Dixit, S., Mishra, K. K., Khanna, S. K., Das, M., 2008. Benzoate and synthetic color risk assessment for fast food sauces served at street food joints of Lucknow, India. *American Journal of Food Technology*, 3: 183-191
- Donsi, F., Ferrari, G., 2016. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 233: 106-120
- EFSA. 2011a. Scientific opinion related to a notification from the International Organisation of Vine and Wine (OIV) on casein/caseinate/milk products to be used in the manufacture of wine as clarification processing aids pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC – for permanent exemption from labelling. *European Food Safety Authority Journal*, 9, 10: e2384, doi: 10.2903/j.efsa.2011.2384: 13 str.
- EFSA. 2011b. Scientific opinion related to a notification from the International Organisation of Vine and Wine (OIV) on ovalbumin/egg white to be used in the manufacture of wine as clarification processing aids pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC – for permanent exemption from labelling. *European Food Safety Authority Journal*, 9, 10: e2385, doi: 10.2903/j.efsa.2011.2385: 13 str.
- EFSA. 2011c. Scientific opinion related to a notification from the Oenological Products and Practices International Association (OENOPPIA) on lysozyme from hen's egg to be used in the manufacture of wine as an anti-microbial stabilizer/additive pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC – for permanent exemption from labelling. *European Food Safety Authority Journal*, 9, 10: e2386, doi: 10.2903/j.efsa.2011.2386: 11 str.
- Fadaei, V., 2012. Milk Proteins-derived antibacterial peptides as novel functional food ingredients. *Annals of Biological Research*, 3: 2520-2526
- FAO 1990. Food and Nutrition Paper No. 49. 1990. Specifications for identity and purity of certain food additives. General specifications for enzyme preparations used in Food Processing. Food safety risk analysis. Rome, Food and Agriculture Organization: 109 str. <http://www.who.int/ipcs/publications/jecfa/reports/trs940.pdf> (maj 2017)
- González-Chávez, S. A., Arévalo-Gallegos, S., Rascón-Cruz, Q., 2009. Lactoferrin: structure, function and applications. *International journal of antimicrobial agents*, 33: 301e1-301.e8
- Gyawali, R., Ibrahim, S. A., 2012. Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95: 29-45
- Gyawali, R., Ibrahim, S. A., 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46: 412-429, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- Hansen T. K., Poulsen L. K., Skov P. S., Hefle S. L., Hlywka J. J., Taylor S. L., Bindslev-Jensen U., Bindslev-Jensen C. 2004. A randomized, double-blinded, placebo-controlled oral challenge study to evaluate the allergenicity of commercial, food-grade fish gelatin. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 2037–2044
- Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C., Beumer, R. R., 2012. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat pâté at different temperatures. *Food Control*, 23: 66-72
- International Code of Oenological Practices. 1999. Part II. Oenological practices and treatments. O.I.V. Paris, France, Bilingual Edition, Updated version December 1999: 74, 112
- Izvedbena uredba Komisije (EU) št. 579/2012 z dne 29. junija 2012 o spremembi Uredbe (ES) št. 607/2009 o določitvi nekaterih podrobnih pravil za izvajanje Uredbe Sveta (ES) št. 479/2008 v zvezi z zaščitenimi označbami porekla in geografskimi označbami, tradicionalnimi izrazi, označevanjem in predstavitvijo nekaterih proizvodov iz vinskega sektorja. 2012. Official Journal of the European Union, 55, L171: 4-7
- Juneja, V. K., Dwivedi, H. P., Yan, X., 2012. Novel natural food antimicrobials. *Annual review of food science and technology*, 3: 381-403
- Kanatt, S. R., Chander, R., Sharma, A., 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International journal of food science & technology*, 45: 216-222
- Khan, I., Tango, C. N., Miskeen, S., Lee, B. H., Oh, D.-H., 2017. Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety – A review. *Food Control*, 73, Part B: 1426-1444, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.010>
- Kirschner S., Belloni B., Kugler C., Ring J., Brockow K. 2009. Allergenicity of wine containing processing aids: a double-blind, placebo-controlled food challenge. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 19, 3: 210-217
- Langa, S., Landete, J. M., Martín-Cabrejas, I., Rodríguez, E., Arqués, J. L., Medina, M., 2013. In situ reuterin production by *Lactobacillus reuteri* in dairy products. *Food Control*, 33: 200-206
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, A. I., Pichardo, S., Moyano, R., González-Pérez, J. A., Cameán, A. M., 2016. Genotoxicity evaluation of carvacrol in rats using a combined micronucleus and comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 98, Part B: 240-250, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.005>
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Del Nobile, M. A., 2012. Food applications of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*, 3: 287, doi: 10.3389/fmicb.2012.00287
- Miladi, H., Zmantar, T., Kouidhi, B., Chaabouni, Y., Mahdouani, K., Bakhrouf, A., Chaieb, K., 2017. Use of carvacrol, thymol, and eugenol for biofilm eradication and resistance modifying susceptibility of

- Salmonella enterica serovar Typhimurium strains to nalidixic acid. *Microbial Pathogenesis*, 104: 56-63, doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.01.012>
- OIV. 2010. Resolution OIV-OENO 427-2010. Criteria for the methods of quantification of potentially allergenic residues of fining agent proteins in wine. Paris, International Organisation of Vine and Wine: 8 str.
- OIV. 2016a. International code of oenological practices, Issue 2016. Paris, International Organisation of Vine and Wine: 338 str.
- OIV. 2016b. International oenological codex. Paris, International Organisation of Vine and Wine: 709 str.
- OIV. 2016c. Compendium of international methods of wine and must analysis, Volume 1. Paris, International Organisation of Vine and Wine: 504 str.
- OIV. 2016d. Compendium of international methods of wine and must analysis, Volume 2. Paris, International Organisation of Vine and Wine: 762 str.
- Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R. J., O'Brien, N. M., 2009. Casein-derived bioactive peptides: biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *International Dairy Journal*, 19: 643-654
- Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5357
- Pravilnik o postopku in načinu ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2010. Uradni list Republike Slovenije, 10, 32: 3857-3862
- Pravilnik o označevanju in embalaži vina. 2010. Uradni list Republike Slovenije, 20, 37: 5234-5237
- Resolutions de l'O.I.V. 1996. Resolution OENO 6/95: Preparations enzymatiques. *Bulletin de l'O.I.V.*: 779-780, 79-81
- Richter K. 2013. Declaring allergens has become mandatory. *Deutsches Ärzteblatt International*, 110, 3, doi: 10.3238/arztebl.2013.0039c: 1 str.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L., Yuk, H.-G., 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54: 625-644
- Sow, L. C., Tirtawinata, F., Yang, H., Shao, Q., Wang, S., 2017. Carvacrol nanoemulsion combined with acid electrolysed water to inactivate bacteria, yeast in vitro and native microflora on shredded cabbages. *Food Control*, 76: 88-95, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.007>
- Szwajkowska, M., Wolanciuk, A., Barłowska, J., Król, J., Litwińczuk, Z., 2011. Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system—a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 29: 269-280
- Tastan, Ö., Ferrari, G., Baysal, T., Donsi, F., 2016. Understanding the effect of formulation on functionality of modified chitosan films containing carvacrol nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 61: 756-771, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.036>
- Uredba (EU) št. 1169/2011 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom, spremembah uredb (ES) št. 1924/2006 in (ES) št. 1925/2006 Evropskega parlamenta in Sveta ter razveljavitvi Direktive Komisije 87/250/EGS, Direktive Sveta 90/496/EGS, Direktive Komisije 1999/10/ES, Direktive 2000/13/ES Evropskega parlamenta in Sveta, direktiv Komisije 2002/67/ES in 2008/5/ES in Uredbe Komisije (ES) št. 608/2004. 2011. Official Journal of the European Union, 54, L304: 18-63
- Uredba Komisije (ES) št. 607/2009 z dne 14. julija 2009 o določitvi nekaterih podrobnih pravil za izvajanje Uredbe Sveta (ES) št. 479/2008 v zvezi z zaščitenimi označbami porekla in geografskimi označbami, tradicionalnimi izrazi, označevanjem in predstavitvijo nekaterih proizvodov iz vinskega sektorja. 2009. Official Journal of the European Union, 52, L193: 60-139
- Vassilopoulou E., Karathanos A., Siragakis G., Giavi S, Sinaniotis A, Douladiris N., Fernandez-Rivas M., Clausen M. and Papadopoulos N. G. 2011. Risk of allergic reactions to wine, in milk, egg and fish-allergic patients. *Clinical and Translational Allergy*, 1, 10, doi: 10.1186/2045-7022-1-10: 4 str.
- Yadav, A., Kumar, A., Das, M., Tripathi, A., 2016. Sodium benzoate, a food preservative, affects the functional and activation status of splenocytes at non cytotoxic dose. *Food and Chemical Toxicology*, 88: 40-47, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.12.016>
- Yang, T.-C., Chou, C.-C., Li, C.-F., 2005. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *International journal of food microbiology*, 97: 237-245
- ZVin - Zakon o vinu. 2006. Uradni list Republike Slovenije, 16, 105: 10616-10629

UPORABA ADITIVOV V ŽIVILSTVU - IZDELKI IZ ŽIT

Tomaž POŽRL¹ in Mateja MODIC²

Povzetek: Heterogenost izdelkov iz žit je posledica zelo različnih tehnoloških procesov proizvodnje. Pri nekaterih tehnologijah aditivov praktično ne uporabljamo (mletje, kosmičenje, ekstrudiranje), pri drugih pa z uporabo aditivov zagotavljamo kompenzacijo nihanj v kakovosti osnovnih surovin, optimizacijo in ekonomičnost procesov proizvodnje, vrhunsko in konstantno kakovost izdelkov. V prispevku je pripravljen pregled najpomembnejših aditivov pri proizvodnji izdelkov iz žit kot so emulgatorji, hidrokoloidi, vzhajalna sredstva, sredstva za obdelavo moke, organske kisline, konzervansi. Emulgatorji prispevajo k izboljšanim lastnostim testa med obdelavo in boljšim senzoričnim lastnostim končnega izdelka. Hidrokoloidi z interakcijami z osnovnimi komponentami pšenične moke vplivajo na strukturne spremembe v fazah priprave in tudi v končnih izdelkih. Kemijska vzhajalna sredstva nadomeščajo kvasno aktivnost pri težkih, bogatih testih in nekaterih tipičnih pekovskih in konditorskih izdelkih. Sredstva za obdelavo moke so snovi poleg emulgatorjev, ki so dodane moki ali testu za izboljšanje njunih pecilnih lastnosti. Organske kisline uporabljamo za zakisanje testa. Konzervansi ščitijo izdelke pred kvarjenjem, ki ga povzročajo mikroorganizmi in/ali jih ščitijo pred razvojem patogenih mikroorganizmov. Kot odgovor na številne trende po zmanjševanju vsebnosti in uporabe aditivov so v prispevku navedene tudi možnosti nadomeščanja aditivov z drugimi sestavinami in tehnologije, ki omogočajo zmanjšano uporabo aditivov in proizvodnjo t.i. clean label izdelkov.

Ključne besede: izdelki iz žit, emulgatorji, hidrokoloidi, kemijska vzhajalna sredstva, sredstva za obdelavo moke, konzervansi, clean label

ADDITIVES IN FOOD TECHNOLOGY – CEREAL PRODUCTS

Abstract: Diversity of cereal products is consequence of very different technological processes of production. In some technological processes additives are practically not used (milling, flaking, extrusion), while others with additives provide compensation for variations in the quality of the basic raw materials, optimization and efficiency of production processes, superior and constant quality of the products. The article is an overview of the most important additives in the production of cereal products such as emulsifiers, hydrocolloids, leavening agents, flour treatment agents, organic acids, preservatives. Emulsifiers contribute to improved properties of the dough during processing and better sensory properties of the finished product. Hydrocolloids interactions with the basic components of wheat flour affect the structural changes in the phases of preparation and the finished products. The chemical leavening agent substitute the yeast activity in the heavy, rich dough and some typical bakery and confectionery products. Flour treatment agents are substances in addition to emulsifiers, which are added to flour or dough in order to improve its baking properties. The organic acid are used for the dough acidification. Preservatives protect the product against deterioration caused by micro-organisms and / or protect against growth of pathogenic microorganisms. In response to a number of trends to reduce the content and the use of additives, the article also discuss the possibility of additives replacement with other components and technologies that allow reduction of additives and the production of the so-called clean label products.

Key words: cereal products, emulsifiers, hydrocolloids, chemical leavening agents flour treatment agents, preservatives, clean label

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

² dr., Žito d.o.o., Šmartinska 154, Ljubljana, e-mail: mateja.modic@zito.si

1 UVOD

Današnji sodobni trendi in zahteve potrošnikov po živilih, ki imajo čedalje daljši rok trajanja, pri tem pa nespremenjene senzorične lastnosti, kot je na primer okus in svežina, narekujejo uporabo aditivov. Tudi vstop na različne globalne trge zahteva čedalje bolj trajna živila in živila, ki ohranijo dobre senzorične lastnosti tako dolgo, da je omogočeno trženje in uživanje na številnih bolj ali manj oddaljenih trgih.

Po drugi strani pa se osveščeni potrošnik čedalje bolj obrača stran od aditivov in k čim manj predelani in konzervirani hrani. Naloga stroke in tehnologov je, najti kompromis in izdelati predelano hrano, ki bo okusna in predvsem varna s čim manj uporabljenih aditivov.

Posamezne tehnologije se razlikujejo po zahtevnosti in potrebi po uporabi aditivov. Sama predelava žit kot je luščenje in kosmičenje ne potrebuje dodatka aditivov. Pri mletju pride do mehanske obdelave žitnih zrn v moko in druge mlevske izdelke, medtem ko pri kosmičenju gre za stiskanje s paro obdelanega žitnega zrna. Tudi ekstrudirani izdelki največkrat ne potrebujejo dodatka aditivov. So pa tehnologije in izdelki, kjer brez aditivov ne gre, pa naj bodo to različna vzhajalna sredstva (npr. pecilni prašek), emulgatorji ipd.

Pekovski izdelki v širšem pomenu besede predstavljajo eno od najbolj razširjenih skupin med žitnimi izdelki in živilskimi izdelki nasploh. V dolgoletni zgodovini se je v tehnologiji proizvodnje pekovskih izdelkov uveljavilo veliko izboljšav na področju opreme, osnovnih surovin in dodatkov, ki so prispevali k intenzivnemu napredku panoge. Razvoj industrijske proizvodnje pekovskih izdelkov, uporaba strojne obdelave v vseh fazah proizvodnega procesa in vedno večje zahteve potrošnikov po kakovostnih in raznolikih izdelkih so samo nekateri od razlogov za uporabo različnih aditivov (Octaviani Selomulyo in Zhou, 2007). V zadnjem času v proizvodnji veliko pozornosti namenjajo obvladovanju kakovosti in širitvam asortimana ter uveljavitvi nekaterih novih tehnologij kot so priprava pekovskih izdelkov za dopeko, priprava brezglutenskih izdelkov, uporaba alternativnih vrst žit in drugo.

Predvsem spremembe v intenziviranju mehanskih tehnoloških procesov proizvodnje pekovskih izdelkov so privedle do potrebe po hkratnem obvladovanju biokemijskih, kemijskih in fizikalnih dogajanj. S tem namenom se je uveljavila uporaba posameznih aditivov ali kombinacij različnih aditivov (Mikuš in sod., 2012). Številni aditivi z različno kemijsko strukturo imajo pri pripravi različnih pekovskih izdelkov specifične vloge: olajšajo mehansko obdelavo, vplivajo na senzorične lastnosti pekovskih izdelkov, prispevajo k ohranjanju svežine in podaljšujejo trajnost in drugo (Kohajdová in sod., 2009).

Pri proizvodnji izdelkov iz žit se uporabljajo po navadi različne kombinacije aditivov, odvisno od same tehnologije in pričakovanih lastnosti končnega izdelka. Najpogosteje se uporabljajo različni emulgatorji, hidrokoloidi, vzhajalna sredstva, sredstva za obdelavo moke, organske kisline, dodatki za mikrobiološko stabilizacijo izdelkov oz. konzervanse in drugo. Emulgatorji prispevajo k izboljšanim lastnostim testa med obdelavo in boljšim senzoričnim lastnostim končnega izdelka, kot so izboljšane teksturne lastnosti in finejša poroznost in mehkoča sredice, večji volumen, podaljšana svežina in druge (De Leyn, 2006). S teksturnimi lastnostmi pekovskih izdelkov lahko povežemo tudi dodatke hidrokoloidov, ki se v zadnjih letih vedno bolj uveljavljajo tudi v pekovski industriji in so bili v drugih panogah živilske industrije prisotni že dalj časa (Kohajdová in sod.,

2009). Vzhajalna sredstva dajejo ustrezen volumen in strukturo izdelkov v tehnologijah, kjer ne uporabljamo kvasa. Sredstva za obdelavo moke izboljšajo pecilne lastnosti moke, ki odvisno od izbire ojačajo gluten ali pa povečajo elastičnost glutena in tako pomagajo pri dosegu zelenih lastnosti in strukturi različnih izdelkov. Zelene karakteristike izdelkov lahko dosežemo tudi z dodatkom organskih kislin, ki poleg tega, da vplivajo na okus, lahko znatno vplivajo tudi na reološke lastnosti testa. Kvar pekovskih izdelkov s podaljšano trajnostjo je zaradi razvoja plesni velik problem, povezan z velikimi stroški, ki pa se ga tradicionalno preprečuje z dodatkom kemijskih konzervansov, predvsem s solmi šibkih organskih kislin (Marin in sod., 2003).

2 EMULGATORJI

Emulgatorji spadajo med površinsko aktivne snovi (surfaktante), ki zmanjšujejo površinsko napetost med snovmi, ki se ne mešajo. Najbolj pogost primer snovi, ki se ne mešata, sta voda in olje, čeprav lahko enak princip apliciramo tudi za druge snovi oz. faze (plini in trdne snovi) (Flack, 1997). Emulgatorje v živilski industriji delimo glede na izvor (sintetične in naravne), topnost, funkcionalne skupine, hidrofilno in lipofilno ravnotežje (HLB) in potencial za ionizacijo (neionske in ionske) (De Leyn, 2006).

Ključna karakteristika vseh emulgatorjev je v strukturi molekule, ki je amfifilna: to pomeni, da je en del lipofilan in ima afiniteto do lipidnih frakcij, en del pa hidrofilan in ima afiniteto do vode. Zaradi značilne strukture se bo koncentracija emulgatorja povečala na mejnih površinah različnih faz in tako zmanjšala površinsko napetost med njima. Glede na kemijsko strukturo je v živilstvu večina emulgatorjev podobnih maščobam (fatty substances) (De Leyn, 2006) oz. so pripravljene z esterifikacijo užitnih maščobnih kislin. V procesih priprave uporabljajo spojine kot so glicerol, organske kisline (ocetna, mlečna, citronska) in druge (Flack, 1997).

Učinek emulgatorjev v pekarstvu je povezan z interakcijami s škrobom in beljakovinami glutena. Glede na vlogo pri pripravi in lastnostih pekovskih izdelkov lahko različne emulgatorje razdelimo v dve skupini: nekateri so bolj primerni za tvorbo kompleksov s škrobom med pečenjem in kasneje med ohlajanjem in skladiščenjem, drugi pa močnejše vplivajo na tvorbo kompleksov z glutenom in s tem na reološke lastnosti testa. Interakcije s škrobom vplivajo na mehko in trajnost oz. svežino pekovskih izdelkov (prispevajo k mehčanju sredice – »crumb softeners«). Učinek emulgiranja in distribucije maščob pa so posledica interakcij z glutenom (prispevajo k izboljšavam testa – »dough conditioners«) (De Leyn, 2006). Emulgatorjem s takimi lastnostmi rečemo tudi ojačevalci testa.

Prednosti uporabe emulgatorjev v procesu priprave kruhov in pekovskega peciva lahko razdelimo na prednosti, ki pridejo do izraza med samim zamesom in tiste, ki so opazne v gotovih izdelkih. Prednosti uporabe emulgatorjev med zamesom so: tvorba kompleksov z glutenom in s tem vpliv na raztegljivost testa, lažje strojno oblikovanje, izboljšano zadrževanje plina in s tem manjša poraba kvasa, skrajšan čas fermentacije, večji porast volumna med peko, večja toleranca testa med zamesom, povečana absorpcija vode, izboljšana stabilnost testa, pospešena hidratacija moke in ostalih sestavin, povečana toleranca do odstopanj kakovosti mok in drugih sestavin. Prednosti uporabe emulgatorjev, ki so opazne na pekovskih izdelkih pa so: povečan volumen, tvorba kompleksov s škrobom in s tem upočasnjeno staranje sredice, izboljšana tekstura, finejša in enakomerna poroznost sredice, izboljšana simetrija izdelkov, močnejše stranske stene,

lepše rezanje rezin, zmanjšana količina dodanih maščob in svetlejša sredica (De Leyn, 2006, Kohajdová in sod., 2009).

Proces staranja pekovskih izdelkov je zelo kompleksen proces, ki je posledica različnih mehanizmov. Najbolj je verjetna hipoteza, da poteka retrogradacije škroba, zaradi česar se v kristalinično strukturo veže voda. Zaradi tega se prerazporeditev vode nagiba od glutena k škrobu, kar spreminja lastnosti glutenske mreže. Aditivi naj bi vplivali na spremembe lastnosti škrobnih molekul, delovali naj bi kot plastifikatorji in/ali zavirali redistribucijo vode med komponentami (Gray in Bemiller, 2003).

Amiloza in proste verige amilopektina se pri ohlajanju pečenega kruha združujejo v urejene heliksne strukture, ki so odgovorne za staranje sredice. Ta proces rekristalizacije ali retrogradacije se začne takoj po pečenju med ohlajanjem. Molekule emulgatorja se vgradijo v lipofilen, notranji del heliksov, s čimer spremenijo privlačne sile med njimi in tako preprečujejo njihovo združevanje oz. rekristalizacijo. Zato so kruhi, ki so pripravljani z dodatkom emulgatorja, po pečenju mehkejši in tudi starajo se počasneje (Knightly, 1996, Wang in sod., 2015). Emulgatorji naj bi tudi zavirali migracijo vode in uravnavali razporeditev vode med osnovnimi komponentami kruha, kar naj bi ravno tako prispevalo k upočasnjevanju procesa staranja pekovskih izdelkov (Kohajdová in sod., 2009).

Monoacilgliceroli so zelo razširjeni emulgatorji za pripravo kruha. Uporaba takih emulgatorjev prispeva k mehkejši in bolj fini sredici in dobri elastičnosti. Polarni monogliceridi (glicerol monopalmitat in monostearat) zavrejo retrogradacijo, saj kot amfifilne molekule tvorijo helične komplekse z molekulami amiloze in tako preprečijo združevanje in tvorbo dvojnih heliksov med njimi. Prav tako naj bi preprečili združevanje zunanjih amilopektinskih verig (Gray in Bemiller, 2003, Kohajdová in sod., 2009).

Mehanizem delovanja ojačevalcev testa še ni popolnoma jasen, zato obstaja več teorij. Emulgatorji naj bi tvorili komplekse s hidrofobnim delom glutena in s tem močno mrežo, kar se izraža v povečani elastičnosti testa in izboljšani teksturi ter povečanem volumnu kruha (Kohajdová in sod., 2009). Druga teorija pripisuje emulgatorjem pomembno vlogo pri dobri razporeditvi maščobe predvsem med proteinski matriks in škrobna zrna, s čimer se zmanjša trenje med komponentami in izboljša viskoelastične lastnosti testa (De Leyn, 2006).

Med emulgatorji, ki imajo najmočnejši učinek na gluten pri zamesu testa je DATEM (diacetilester tartrat monoglicerid tartratni mono- in diacetilestri mono- in digliceridov maščobnih kislin). DATEM je tudi eden od najpogostejše uporabljenih emulgatorjev. Poleg klasičnih pekovskih izdelkov ga uporabljajo pri proizvodnji drobnega peciva, zamrznjenih pekovskih izdelkov in drugod. Dodatek med zamesom vpliva na izboljšanje tolerance testa med zamesom, boljše zadrževanje plinov, povečan volumen končnega izdelka, izboljšane lastnosti pri rezanju in na mnoge druge lastnosti testa in končnih izdelkov. DATEM je primarno ojačevalec testa, vendar prispeva tudi k zaviranju retrogradacije škroba. Tudi natrijev stearoil-2-laktilat (SSL) je emulgator, ki ima dvojni učinek, saj deluje kot ojačevalec testa in istočasno vpliva na mehčanje sredice oz. zavira retrogradacijo škroba. Uporaba SSL prispeva k izboljšanju volumna pekovskih izdelkov, finejši in enakomerni strukturi sredice, upočasnitvi izgube mehkobe in številnim drugim lastnostim (Gray in Bemiller, 2003, De Leyn, 2006, Kohajdová in sod., 2009).

Poznani so še drugi emulgatorji, ki jih uporabljajo v proizvodnji izdelkov iz žit. Najboljši učinek na proces proizvodnje in končno kakovost izdelkov pa je opazen pri uporabi kombinacije obeh vrst emulgatorjev, kar izkoriščajo tudi proizvajalci pekovskih aditivov. Običajen dodatek emulgatorjev je od 0,1 do 0,5 % na količino moke (De Leyn, 2006, Kohajdová in sod., 2009).

Posebno mesto med emulgatorji zasedajo lecitini, ki so običajno mešanica različnih fosfolipidov, ki se sicer nahajajo v rumenjaku, nerafiniranih oljih in tudi drugje. Komercialno najpomembnejši vir lecitina je soja, zaradi problematike gensko spremenjenih organizmov in alergenov pa se čedalje več uporablja tudi sončnični ali repični lecitin. Od sestave in količine posameznih fosfolipidov je odvisno njihovo delovanje. Ker imajo lecitini različnih izvorov različno sestavo, so tudi njihove emulgativne lastnosti različne. Znano je, da se lecitin v rumenjaki (vsebuje pretežno fosfatidil holin in le sledove fosfatidil inozitola) razlikuje v sestavi od lecitina iz soje (vsebuje več fosfatidil inozitola in bistveno manj fosfatidil holina). Splošno jih smatrajo kot dobre (ne pa odlične) ojačevalce testa in emulgatorje, ki tudi učinkovito upočasnijo staranje sredice. Dodatek lecitina vpliva na povečanje volumna kruha, boljšo stabilnost glutena, boljše emulgiranje maščob, povečano hidratacijo, daljšo trajnost in drugo (Gray in Bemiller, 2003, De Leyn, 2006, Kohajdová in sod., 2009). Lecitin uporabljajo tudi pri proizvodnji raznih posebnih vrst kruha (baguette, kruhi z izraženo hrustljivostjo skorje), pri čokoladnih in mlečnih proizvodih, proizvodih iz maščob in podobno.

3 HIDROKOLOIDI

S terminom hidrokoloidi opišemo skupino funkcionalnih dodatkov, ki so praktično vsi rastlinskega izvora (hitozan je živalskega izvora) in imajo zelo raznoliko in kompleksno polisaharidno strukturo. Pridobivajo jih iz različnih rastlin (tudi morskih) in rastlinskih eksudatov, mikrobioloških produktov ter z modifikacijo nekaterih biopolimerov (celuloza) (Kohajdová in sod., 2009). Najbolj poznani hidrokoloidi, ki jih v industriji najpogosteje uporabljajo so: alginati, karagenani, guar gume, gume arabika, agarji, ksantan, karboksimetilceluloza, hitozan in številni drugi. V živilstvu imajo hidrokoloidi zaradi svojih značilnosti različne vloge, saj so lahko vir prehranske vlaknine, procesni pripomočki ali funkcionalni dodatki oz. vse skupaj (vloga je pogosto povezana s koncentracijo dodatka) (Kohajdová in sod., 2009). Kot dodatki pri proizvodnji različnih živil modificirajo reološke in teksturne lastnosti vodnih sistemov. Vplivajo na stabilnost emulzij, suspenzij, pen in na proces želiranja škroba (De Leyn, 2006). Hidrokoloide uporabljajo tudi pri proizvodnji juh, omak, dresingov, prelivov, sladoleđov, džemov in marmelad, želejev, finih pekovskih izdelkov in druge (Saha in Bhattacharya, 2010).

V pekovski industriji imajo hidrokoloidi vlogo izboljševalcev kruha, saj z interakcijami z osnovnimi komponentami pšenične moke vplivajo na strukturne spremembe v fazah priprave pekovskih izdelkov in tudi v končnih izdelkih. Dodatek hidrokoloidov izboljša možnosti obdelave testa, izboljša kakovost pekovskih izdelkov in podaljša njihovo trajnost (De Leyn, 2006). Vpliva na povečanje vezave vode in volumna pekovskih izdelkov in na zmanjšanje trdote ter zaviranje procesa retrogradacije škroba. Zaradi hidrofilnih lastnosti hidrokoloidi upočasnijo rast vodnih kristalov med skladiščenjem zamrznjenih izdelkov in migracijo vode iz notranjosti proti zunanosti izdelkov, kar izboljšuje stabilnost zamrznjenih pekovskih izdelkov (Kohajdová in sod., 2009).

Hidrokoloidi lahko spreminjajo potek procesov spreminjanja škroba kot je želiranje, fragmentacijo, retrogradacijo in drugo ter tako vplivajo na lastnosti testa in proces

staranja kruha (Kohajdová in sod., 2009). Številni raziskovalci so se ukvarjali s preučevanjem vpliva dodatka hidrokoloidov na proces retrogradacije škroba. Ugotovitve so pokazale, da so učinki zelo različni, saj so odvisni od številnih dejavnikov, kot je način priprave paste oz. gela, temperature in časa skladiščenja, vrste in količine dodatka, metode analize in drugih (Wang in sod., 2015). Pomemben podatek, ki vpliva na funkcionalnost hidrokoloidov v izdelkih iz žit, je količina dodatka. Tehnološki učinki oz. vplivi na kakovost končnih izdelkov so posledica majhnih dodatkov (< 1% na maso moke), medtem ko naj bi bili večji dodatki (npr. 7 % dodatka guar gume ali 2 % dodatek ksantana) namenjeni predvsem prehranskim izboljšavam npr. pekovskih izdelkov (večja vsebnost prehranske vlaknine). Hidrokoloidi imajo nevtralen okus in vonj, kar omogoča njihovo uporabo v različnih recepturah (Kohajdová in sod., 2009).

Struktura različnih hidrokoloidov se zelo razlikuje, zato so različne tudi njihove lastnosti in učinki, ki jih imajo v izdelkih iz žit. Gumi arabika je v vodi topen hidrokoloid rastlinskega izvora, ki ima zelo razvejano strukturo, daje viskozne raztopine pri večjih koncentracijah in vpliva na povečanje volumna ter izboljšanje izgleda, teksture oz. mehkobe in drugih senzoričnih lastnosti pekovskih izdelkov (Selomulyo in Zhou, 2007). Karagenan je polisaharid, ki ga pridobivajo z ekstrakcijo iz alg. Kot aditiv pri pripravi pekovskih izdelkov učinkuje na povečanje specifičnega volumna in povečanje vsebnosti vode v izdelkih. Guar gumi je galaktomanan, ki ga pridobivajo iz rastlinskih semen in je učinkovit že pri nizkih koncentracijah. Pri pripravi izdelkov izboljšuje stabilnost testa med mešanjem, zaradi boljšega zadrževanja vode so pekovski izdelki trajnejši, preprečuje sinerezo pri zamrznjenih izdelkih in različnih polnilih (Selomulyo in Zhou, 2007). Ksantan je polisaharid mikrobiološkega izvora, ki mu različni avtorji pripisujejo veliko lastnosti pozitivnih za tehnologijo proizvodnje pekovskih izdelkov, saj dodatek ksantana prispeva k izboljšani homogenosti testa, povečanju volumna in vsebnosti vode v pekovskih izdelkih, manjši drobljivosti sredice, izboljšani odpornosti kruhov na mehanske poškodbe in drugo (Kohajdová in sod., 2009). Karboksimetil celuloza je derivat celuloze z vezanimi karboksimetilnimi skupinami na monomerne enote, ki tvorijo celulozno verigo. V pekovskih izdelkih prispeva predvsem k zadrževanju vlage, obvladovanju kristalizacije, izboljšavi volumna in izenačenosti (Kohajdová in sod., 2009).

4 VZHAJALNA SREDSTVA

Najpogosteje uporabljano vzhajalno sredstvo v izdelkih iz žit je kvas. V težkih, bogatih testih, kjer bi večje količine dodanega sladkorja, maščob ali jajc močno upočasnili oziroma onemogočili aktivnost kvasa, se uporabljajo kemijska vzhajalna sredstva. Najpogosteje se le ta uporabljajo za proizvodnjo biskvitov, keksov, krekerjev. Zadnje čase vse več potrošnikov išče kruh brez kvasa, zato se tudi v klasičnih pekovskih izdelkih alternativno uporabljajo kemijska vzhajalna sredstva.

Kemijska vzhajalna sredstva tvorijo plin, ki nastaja, ko poteče reakcija med virom ogljikovega dioksida in kislino, ko se le ti zmešajo in pridejo v stik z vodo. Tako nastali plin se ujame v testo ali slaščičarsko maso, med peko se razteza in tako tvori luknjičasto strukturo končnega izdelka (Chemical leaveners, 1996).

Soda bikarbona (natrijev hidrogen karbonat) je najpogosteje uporabljen vir ogljikovega dioksida. Je cenovno ugodna, enostavna za uporabo in ne daje neprijetnega priokusa. Moka in druge sestavine so rahlo kisle, zato se ob dodatku sode barbone tvori nekaj

ogljikovega dioksida, če pa dodamo kislino, bo sproščenega ogljikovega dioksida še več (Chemical leaveners, 1996).

Pecilni prašek je sestavljeno vzhajalno sredstvo. Vsebuje nosilec ogljikovega dioksida, eno ali več kislin, ki ob stiku z nosilcem sproščajo ogljikov dioksid in nosilec, katerega vloga je, da prepreči tvorbo CO₂ med skladiščenjem. Kot nosilec CO₂ se najpogosteje uporablja natrijev bikarbonat (soda bikarbena), v aplikacijah, kjer želimo omejiti vsebnost natrija lahko tudi kalijev bikarbonat (KHCO₃) ter amonijev bikarbonat (NH₄HCO₃) in kalijev karbonat (K₂CO₃) (Brose in sod, 1996). Kisline za vzhajanje so dodane v prašnati obliki kot njihove soli, ki ne reagirajo, dokler niso raztopljene v vodi. Najpogosteje se uporablja Na pirofosfat. Nosilec (škrob, kalcijev sulfat ali kalcijev karbonat) stabilizira proizvod s tem, da loči sodo bikarbono in kislino za vzhajanje in standardizira želeno moč pecilnega praška. Ločimo tako imenovane »single acting« pecilne praške, ki vsebujejo samo eno kislino za vzhajanje in so počasi delujoči (reagirajo zelo malo pri nizkih temperaturah) ali pa hitro delujoče, ki tvorijo plin tudi pri nižjih temperaturah takoj po dodajanju. Dvojno delujoči »double acting« pecilni praški vsebujejo mešanico hitro in počasi delujočih kislin in reagirajo delno pri nizkih, delno pa pri visokih temperaturah (Chemical leaveners, 1996).

Kemijska vzhajalna sredstva lahko vplivajo na okus (možen grenak pookus) – vpliv je odvisen od izbire kisline in razmerja kisline in sode bikarbene (Pop, 2007), v odvisnosti od pH končnega izdelka pa je odvisen tudi vpliv na barvo sredice. Tako uporaba pecilnega praška z majhno količino sode bikarbene (nizek pH) daje svetlejšo barvo sredice, višjih pH pa temnejšo, kar je še posebej zaželeno pri izdelkih z dodano čokolado (Chemical leaveners, 1996).

Amonijev bikarbonat, imenovan tudi jelenova sol je manj poznana sestavina za rahljanje testa. Ko je amonijev bikarbonat izpostavljen visokim temperaturam v prisotnosti vlage, se hitro razgradi v amonijak, CO₂ in vodo. Uporablja se ga predvsem pri proizvodnji krekerjev in tankih keksov z zelo nizko vsebnostjo vode, tako da amonijak izhlapi in ne pušča neprijetnega okusa. Jelenova sol povečuje obarvanost izdelkov in daje enakomerno hrustljivo teksturo izdelkov (Fagoni, 2008). Kot vzhajalno sredstvo se lahko uporablja tudi vinski kamen. To je vzhajalno sredstvo z zelo hitrim delovanjem, saj se kar 70 % CO₂ sprosti že med samim mešanjem (Fagoni, 2008), zato je priporočljiva kombinacija z drugimi vzhajalnimi sredstvi.

5 SREDSTVA ZA OBDELAVO MOKE

Sredstva za obdelavo moke so snovi, razen emulgatorjev, ki so dodane moki ali testu za izboljšanje njunih pecilnih lastnosti (Uredba 2008).

Med mešanjem testa se tvori kontinuirna glutenska mreža, ki prispeva k viskoelastičnim lastnostim testa. Lastnosti te glutenske mreže so močno odvisne od karakteristik proteinov glutena moke. Dobra elastična glutenska mreža zadržuje CO₂, ki nastaja pri vzhajanju in s tem daje testu in kasneje kvašenemu izdelku optimalne lastnosti. Vendar pa se lastnosti glutena med seboj lahko znatno razlikujejo in so zelo odvisne od genetskih, okoljskih pogojev in od pogojev po žetvi. Neustrezno kvaliteto moke lahko izboljšamo in tem standardiziramo z dodatki, ki spremenijo funkcionalnost proteinov glutena (Joye in sod. 2009). V ta namen se največ uporabljata askorbinska kislina in L-cistein.

Proces oksidacije sestavin moke je zelo pomemben za proizvodnjo kvalitetnih pekovskih izdelkov. Oksidacija sestavin moke teče spontano pri odležavanju moke in pri procesu mešanja testa. Intenzivnost teh procesov je mogoče povečati z uporabo različnih dodatkov z oksidativnimi lastnostmi.

Askorbinska kislina je pravzaprav antioksidant oziroma reducirajoče sredstvo. Encimi, naravno prisotni v moki, v testu pretvorijo askorbinsko kislino v dehidroaskorbinsko kislino, ki ima oksidativen učinek, oksidacija pa lahko poteka tudi neencimsko (Joye in sod., 2009). Askorbinska kislina v testu vpliva na oksidacijo prostih tiolnih skupin glutena, kar ima za posledico tvorbo disulfidnih mostov in s tem ojačitev glutenske mreže (Tašner 2007). Rezultat tega je povečano vpijanje vode ob zamesu testa, kar vpliva tudi na svežino končnega izdelka. Omogoča lažjo obdelavo testa, ki je manj lepljivo ter boljšo sposobnost zadrževanja plinov in stabilnost pri fermentaciji, zato so volumni pekovskih izdelkov večji, izdelki pa imajo izboljšano poroznost in elastičnost sredice. (Tašner, 2007). Askorbinska kislina vpliva tudi na delovanje proteolitičnih encimov, s čemer se povečuje toleranca testa na podaljšano fermentacijo. V primeru pomanjkanja kisika ima askorbinska kislina reducirajoč učinek, kar se odraža v slabljenju glutenske mreže (Joye in sod. 2009).

Uporaba askorbinske kisline je po evropski zakonodaji dovoljena po načelu quantum satis, v praksi pa je dozacija zelo majhna – od 30 -200 ppm, odvisno od tipa moke, vrste tehnološkega postopka, za katerega se moka uporablja itd. Predoziranje askorbinske kisline ima negativen učinek - gluten je premočen, kar se odraža v majhnih volumnih, neenakomerno poroznostjo in razpokano skorjo pekovskih izdelkov (Hruškova in Novotna, 2003).

Askorbinsko kislino se lahko s pomočjo mikrodozatorjev uporablja že v samem mlinu, s čemer se skrajšuje potreben čas odležavanja in se tako povečujejo kapacitete silosov oziroma celic za odležavanje moke. Lahko se jo doda ob sami proizvodnji v količinah, ki so potrebne za konkretno specifično delovanje. Zaradi praktičnosti je velikokrat sestavina sestavljenih izboljševalcev, ki olajšajo rokovanje in natančnost doziranja.

Kot sredstvo za obdelavo moke se pogosto uporablja tudi L- cistein - pogojno esencialno aminokislino, ki vsebuje žveplo. Je reducirajoče sredstvo, ki se uporablja za skrajšanje časa mešanja in povečanje elastičnosti testa. Dodatek L-cisteina izboljša elastičnost lepka in poveča sposobnost zadrževanja plinov (Bruemmer in sod., 1996). Uvrščamo jo med snovi, ki sproščajo oziroma rahljajo glutensko mrežo. V glutenski mreži razvzroča niti glutena in tako pospešuje raztezanje testa ter nastanek gladkega, dobro povezanega testa. Dodatek takih sredstev je nujen predvsem pri mokah z visoko vsebnostjo glutena, ki je kratek in neelastičen. Dodatek cisteina omogoča skrajšanje časa mešanja testa in tako omeji obseg oksidacijskih procesov. Z njim dosežemo boljšo elastičnost in homogenost testa, olajšamo strojno obdelavo testa in skrajšamo čas vzhajanja testa. Skrajšan čas mešanja je še posebej pomemben pri proizvodnji kvašenih zamrznjenih izdelkov, saj omogoča ohranitev stabilnosti kvasa (Reducing agents, 2011).

6 ORGANSKE KISLINE

V tehnologijah predelave žit se uporabljajo različne organske kisline bodisi zaradi okusa (npr. v slaščičarstvu), kot tudi zaradi njihove tehnološke vloge – npr. v pekarstvu, kjer se uporabljajo zaradi zakisanja testa. Z zniževanjem pH testa se namreč znižuje temperatura

inaktiviranja alfa amilaz, zmanjšuje pa se tudi aktivnost proteinaz. Najpogostejše se v te namene uporabljajo mlečna, očetna, vinska in citronska kislina.

Organske kisline se uporabljajo predvsem pri pripravi rženih in drugih črnih in polnozrnatih kruhov. Njihova uporaba zavira delovanje encimov amilaz, kar nam omogoča, da dobimo kvaliteten rženi ali rženi mešani kruh z elastično, primerno rahlo sredico in prijetnim, aromatičnim okusom, izboljšajo pa tudi svežino kruha.

Očetna kislina in njene soli se uporabljajo tudi za preprečevanje razvoja nitkavosti kruha. Nitkavost kruha povzročata *Bacillus subtilis* in *Bacillus mesentericus*, katerih spore lahko kontaminirajo moko, pekovske izboljševalce, kvas. Spore teh bakterij so toplotno stabilne in preživijo temperature peke. Predvsem v poletnih mesecih, ko so temperature in vlaga zraka višje, lahko povzročijo nitkavost, ki se v prvi fazi kaže kot sladkast vonj, vonj po zavretem sadju. Sredica postaja vlažna in lepljiva, postaja rjave barve, pri lomljenju kruha pa se vlečejo sluzave niti. Nitkavost je posledica kombiniranega delovanja poteolitičnih in amilolitičnih encimov, ki jih tvorijo nekateri soji *Bacillus*. Nitkavost se lahko zelo hitro razvije v toplih in vlažnih pogojih (Valerio in sod., 2008).

Razvoj nitkavosti zelo učinkovito preprečuje tudi propionska kislina in njene soli. Učinek se še posebej poveča pri znižanem pH-ju, torej ob prisotnosti drugih kislih sestavin, kar pa lahko močno upočasni aktivnost kvasa v kvašenih izdelkih in seveda negativno vpliva na okus izdelka, zato je treba doziranje omejiti na zahtevani minimum (Popper in sod, 2006).

7 KONZERVANSI

Konzervansi so snovi, ki podaljšajo rok uporabnosti živil tako, da jih ščitijo pred kvarjenjem, ki ga povzročajo mikroorganizmi in/ali jih ščitijo pred razvojem patogenih mikroorganizmov (Uredba 2008).

Uporaba konzervansov je odvisna od sestave izdelka, načina pakiranja in pogojev shranjevanja ter od pričakovanega roka trajanja živila. Pri izdelkih iz žit z zelo majhno vsebnostjo vode in dnevno svežih izdelkih uporaba konzervansov ni potrebna.

Razvoj plesni je najpogostejši kvar pekovskih izdelkov. Kruh pride iz peči praktično sterilan. Ker pa so povsod v zraku prisotne spore plesni, lahko pride do naknadne kontaminacije skorje, pri rezanih kruhih pa tudi sredice kruha. Pri rezanju med rezine kruha pride tudi zrak, ki ga plesni potrebujejo za svoj razvoj. Najpogostejši faktorji, ki vplivajo na razvoj plesni so temperatura, pH in vodna aktivnost (Guynot in sod. 2005).

Večina organskih kislin z dolžino ogljikove verige od 1-14 ima določeno fungistatično delovanje, vendar je uporaba večine od njih omejena zaradi neprijetnega vonja in okusa. Zato se komercialno uporabljajo največ sorbinska in propionska kislina in njune soli. Konzervansi se pogosto dodajajo v obliki soli, saj so soli bolj topne v vodi. Učinkovitost konzervansov je močno odvisna od pH izdelka, saj je antimikrobno delovanje nedisociiranih kislin močnejše kot pa delovanje disociiranih kislin. Makimalni pH za učinkovito delovanje je od 6,0-6,5 za sorbate in od 5,0 do 5,5, za propionate (Suhr in Nielsen, 2004).

Propionska kislina je učinkovito sredstvo proti plesnim in proti razvoju nitkavosti, manj pa vpliva na razvoj kvasovk, zato je to tradicionalna izbira za uporabo v pekovskih izdelkih. Poleg propionske kisline se lahko uporabljajo tudi natrijev, kalcijev ali kalijev propionat.

Bolj kot propionska kislina je učinkovita sorbinska kislina, ki zavira tako razvoj plesni kot tudi kvasovk in se uporablja v različnih izdelkih, tudi v slaščičarskih in pekovskih izdelkih (Suhr in Nielsen, 2004). Sorbinska kislina in njene soli, zlasti kalijev sorbat, pa tudi kalcijev sorbat, spadajo med najpogostejše uporabljane konzervanse v pekarstvu. Imajo dokaj širok spekter delovanja, saj inhibirajo rast in razmnoževanje kvasovk in plesni, pa tudi nekaterih bakterij. Antimikrobna aktivnost sorbinske kisline in sorbatov je odvisna od številnih faktorjev: vrste mikroorganizmov, pH vrednosti, vodne aktivnosti in sestave živil, v katerih so ti mikroorganizmi prisotni pa tudi od načina pakiranja, skladiščenja ter prisotnosti drugih aditivov. Slabost dodajanja sorbinske kisline in sorbatov je negativen vpliv na okus in zniževanje pH (Matz, 1992).

Če uporabljamo konzervanse v kvašenih izdelkih, moramo upoštevati, da dodatek konzervansov lahko zavira delovanje kvasovk. To pomeni večjo dozacijo kvasa, kar lahko pusti neprijeten okus po kvasu ali pa podaljšan čas fermentacije, kar pa lahko bistveno spremeni tehnološki postopek in zahteva posebno pozornost zlasti v kontinuiranih postopkih izdelave.

Najbolj učinkovita je uporaba kombinacije različnih parametrov, ki lahko delujejo sinergistično pri zaviranju razvoja rasti mikrobioloških kvarljivcev. Najpogostejše se uporablja rahlo zmanjšanje a_w vrednosti, nižji pH, dodatek antimikrobnih snovi in podobno (Guynot in sod. 2005).

8 UPORABA ADITIVOV V PRAKSI

Nekateri aditivi imajo omejeno dovoljeno količino, ki jo lahko uporabljamo, nekatere aditive pa lahko uporabljamo po načelu quantum satis – torej toliko, kolikor je zares potrebno v skladu z dobro proizvodno prakso. Dodajamo jih lahko v različnih tehnoloških fazah.

Za dosego ustreznih tehnoloških lastnosti moke pa se lahko že v samem mlinu s postopki mikrodozacije dodajajo aditivi, s katerimi dobimo tehnološko boljše ali pa namenske moke. Tako npr. z dodatkom askorbinske kisline okrepimo lepek in tako morda kompenziramo nekoliko slabšo surovino. Vse potrebne aditive pa se lahko seveda v proizvodnji dodaja tudi direktno.

Aditive lahko v posameznih tehnoloških postopkih dodajamo posamično, vse bolj pa se uporabljajo že pripravljene pripravki - koncentracije ali izboljševalci, ki vsebujejo vnaprej pripravljeno skrbno premišljeno in testirano kombinacijo različnih aditivov.

Danes je za proizvodnjo na voljo veliko že pripravljenih kombinacij dodatkov v tako imenovanih pekovskih izboljševalcih, katerih sestava se razlikuje glede na namen in specifično uporabo. Njihova uporaba v proizvodnji močno olajša delo in ob upoštevanju predpisanega doziranja zagotavlja dobro in enakomerno kvaliteto izdelkov. Na trgu obstajajo tudi številne že gotove zmesi, ki vsebujejo vse, kar je potrebno za kvaliteten, prehransko ustrezen in varen izdelek.

Kljub želji potrošnikov, da bi zmanjšali uporabo aditivov, pa v zadnjem času intenzivno narašča povpraševanje po nekaterih skupinah izdelkov, kjer je uporaba emulgatorjev, hidrokoloidov in drugih aditivov praktično obvezna. Pri ohlajenih in zamrznjenih pekovskih izdelkih namenjenih dopeki in brezglutenskih pekovskih izdelkih brez dodatka aditivov praktično ni mogoče narediti kakovostnega izdelka. Taki izdelki so namreč izpostavljeni zahtevnim pogojem skladiščenja oz. so proizvedeni iz surovin brez za pekovsko tehnologijo osnovne komponente – glutena.

Ponudba ohlajenih, zamrznjenih test ter polpečenih izdelkov namenjenih dopeki v trgovinah ali doma predstavlja danes pomemben delež v ponudbi pekovskih izdelkov. Za potrošnika so zanimivi izdelki, ki so vedno sveže pečeni, za trgovce in proizvajalce konstantna ponudba različnih izdelkov in njihova podaljšana trajnost, za vse skupaj pa bistveno manj odpadnega kruha. Pri pripravi izdelkov za dopeko uporabljajo dodatke emulgatorjev, hidrokoloidov, nekatere encime in drugo v različnih kombinacijah. Na ta način v pekarnah upočasnijo predvsem problematične procese migracije vode med skladiščenjem in poškodbe, ki so posledica tvorbe kristalov vode med zamrzovanjem. Pomembno je tudi zaviranje retrogradacije škroba v različnih fazah priprave in skladiščenja izdelkov, kar je za končno kakovost takih izdelkov izjemno pomembno. Uporabljajo tudi selekcionirane kvasovke. Pomemben je tudi ustrezen način skladiščenja, s čimer lahko zagotovimo dobro kakovost izdelka za več časa (Ribotta in sod., 2004, Lopes Almeida in sod., 2016, Ferrero, 2017).

Proizvodnjo brezglutenskih pekovski izdelkov predstavlja velik tehnološki problem. Veliko brezglutenskih kruhov na trgu ima v primerjavi s klasičnimi pšeničnimi izdelki bistveno slabše lastnosti (majhen volumen, neznačilno barvo, neznačilno strukturo sredice, drobljivo sredico) ter spremenjeno sestavo (manjša vsebnost beljakovin in večja vsebnost maščob) (Matos in Rosell, 2015).

Osnovna doktrina pri raziskavah in proizvodnji brezglutenskih pekovskih izdelkov temelji na zamenjavi pšenice s surovinami brez glutena (riž, koruza, ajda, sirek, amarant, kvinoja) ali z različnimi vrstami škroba (koruzni, krompirjev, kasavin, rižev, fižolov). Značilne viskoelastične lastnosti glutena naj bi nadomestili z dodatkom različnih vrst hidrokoloidov (guar gumi, ksantan, karagenani, alginati idr.), ki naj bi s svojo polimerno strukturo tvorili glutenu podoben matriks. Z namenom utrditi strukturo testa uporabljajo dodatke beljakovin (mlečne, jajčne beljakovine idr.) in encimov (transglutaminaze, proteaze idr.), ki naj bi povezali proteinsko mrežo. Dodatki emulgatorjev (DATEM, lecitin idr.) naj bi pomagali pri sposobnosti zadrževanja plinov v testu in izboljšavi teksture sredice. Možni so še dodatki različni mlečnih izdelkov (sirotka, mleko v prahu idr.), prebiotikov (inulin) in številnih drugih snovi. Številne kombinacije omogočajo proizvodnjo široke palete brezglutenskih pekovskih izdelkov, ki pa so lahko tudi zelo različne kakovosti (Gallagher, 2009, Matos in Rosell, 2015, Mir in sod., 2016).

9 SESTAVINE IN POSTOPKI ZA ZMANJŠEVANJE UPORABE ADITIVOV

Novi trendi v pekovski industriji v zadnji letih usmerjajo proizvodnjo k zmanjševanju oz. popolnemu opuščanju uporabe različnih aditivov in pripravi ti. »clean label« izdelkov (Gänzle in Ripari, 2016). Posledično tehnologi vedno pogosteje uporabljajo zelo različne pristope za lažje obvladovanje samega procesa proizvodnje in kakovosti ter trajnosti izdelkov, ki pa se iz leta v leto izpopolnjujejo in omogočajo proizvodnjo velike količine izdelkov konstantne kakovosti.

Z vidika nadomeščanja aditivov bi lahko različne pristope razdelili na: nadomeščanje aditivov z uporabo tradicionalnih metod (uporaba kislega testa, kisa), nadomeščanje aditivov z uporabo drugih sestavin in tehnoloških sredstev (encimi, inaktivni prehranski kvas, encimsko aktivna sojina moka in podobno), nadomeščanje aditivov z uporabo različnih metod zaščite izdelka po pripravi (naknadna termična obdelava, različni načini pakiranja ...).

Ena od zelo pogosto uporabljenih možnosti za zmanjšanje uporabe aditivov je uporaba kislega testa, ki lahko v veliki meri nadomesti določen del komercialnih aditivov. Kislo testo je že dolgo uveljavljen dodatek pri pripravi različnih vrst pekovskih izdelkov z raznolikimi pozitivnimi učinki na kakovost in trajnost. Mnogi raziskovalci so se ukvarjali s študijami vpliva različnih kultur mlečnokislinskih bakterij na tehnološke in senzorične parametre pekovskih izdelkov iz različnih osnovnih surovin. Med fermentacijo kislega testa mlečnokislinske bakterije proizvajajo različne metabolite, ki pozitivno vplivajo na teksturo in procese staranja kruha, kot so organske kisline, različni eksopolisaharidi in prekursorji za tvorbo aromatskih snovi. Organske kisline vplivajo na beljakovinske in škrobne frakcije moke, znižujejo pH in vplivajo na aktivnost proteaz in amilaz, kar prispeva k upočasnjevanju procesa retrogradacije škroba. Dodatku kislin kot aditivov se torej lahko izognemo z uporabo kislega testa, kjer po naravni poti s predpripravo testa s pomočjo starter kultur, ki usmerjano vodijo razvoj testa, dosežemo tvorbo različnih kislin, pa tudi drugih aromatskih snovi, ki pozitivno vplivajo na lastnosti testa ter na kvaliteto končnega izdelka (Tieking in Ganzle, 2005, Arendt in sod., 2007). Uporaba kislega testa pomembno vpliva na tvorbo snovi arome. Mlečnokislinska fermentacija prispeva k izboljšanim prehranskim lastnostim, saj izboljšujejo dostopnost mineralov in zmanjšujejo vsebnost fitinske kisline. Pri hidrolizi žitnih proteinov zaradi aktivnosti mlečnokislinskih bakterij nastajajo bioaktivni peptidi z antioksidativnimi in drugimi prehransko pomembnimi lastnostmi (Rizzello in sod., 2008, Gänzle in Ripari, 2016).

Eksopolisaharidi (fruktan, levan, dekstran in drugi) potencialno lahko nadomestijo dodatke hidrokoloidov, saj izboljšajo reološke lastnosti testa s tem pa olajšajo mehansko obdelavo, povečajo pijanje vode, povečajo volumen kruha in izboljšajo teksturo kruha ter prispevajo k upočasnitvi staranja. Nekateri eksopolisaharidi imajo tudi prebiotične lastnosti (Tieking in Ganzle, 2005, Arendt in sod., 2007).

Kislo testo je tudi tradicionalno vzhajalno sredstvo in vir antimikrobnih snovi kot so primarno organske kisline (mlečna in očetna), etanol, CO₂, vodikov peroksid, diacetil in različni bakteriocini (Messens in De Vuyst, 2002). Dodatek kislega testa vpliva tako tudi na mikrobiološko trajnost izdelkov, tako da se uporabi konzervansov lahko izognemo z naravnim kislim vodenjem testa, lahko tudi z dodatkom kisa. Razvoj nitkavosti učinkovito preprečuje tudi dodatek kislega testa, proizvedenega z različnimi mlečno kislinskimi bakterijami, kot je npr. *Lactobacillus plantarium* (Valerio in sod., 2008).

Poleg uporabe kislega testa pa peki vedno pogosteje uporabljajo tudi različne encime. Encimi kot dodatki za proizvodnjo pekovskih izdelkov ne spadajo med klasične aditive in jih kot take tudi ni potrebno deklarirati. V razvoju pekovskih tehnologij se veliko dela na uporabi različnih encimov, ki so seveda zelo specifični, imajo specifične optimume aktivnosti in lahko nadomestijo določene aditive. Najpomembnejši encimi, ki jih uporabljamo v pekarstvu, so: amilaze, proteaze, lipoksigenaze, hemicelulaze, lipaze, glukoza oksidaze in transglutaminaze (De Leyn, 2006, Mikuš in sod., 2012).

Pri tehnologiji priprave pekovskih izdelkov so že pred desetletji uporabljali npr. dodatke slada, ki je bil predvsem izvor amilaz za produkcijo sladkorjev med procesom fermentacije in soje kot vira lipoksigenaz za pridobivanje bolj belega kruha. Encime, ki jih dodajajo v tehnološkem procesu, toplota med peko kruha »uniči«. Dodatki encimov prispevajo k izboljšavam teksture in izgleda ter prehranskih lastnosti izdelkov, poleg tega pa lahko izboljšajo tudi aromo izdelkov in njihovo trajnost. Encimi, ki jih uporablja pekovska industrija, predstavljajo zelo pomemben del globalnega trga (Mikuš in sod., 2012). Različni encimi so sicer že izvorno prisotni v pšenični moki in so locirani predvsem v alevronski plasti in kalčku pšeničnega zrna, med najpomembnejše pa spadajo amilaze, proteaze in oksidoreduktaze (De Leyn, 2006). Vsebnost encimov v moki ni konstantna, zato poskušajo tehnologi z dodatki kompenzirati primanjkljaj aktivnosti (De Leyn, 2006, Mikuš in sod., 2012).

Uporaba encimov v pekovski industriji je vedno bolj uveljavljena praksa. Večina encimov je tudi že komercialno dostopnih, veliko raziskav pa je usmerjenih k preučevanju učinka dodatka kompleksnih mešanic encimov. Uporaba lipolitičnih encimov npr. lahko bistveno zmanjša količino dodanih emulgatorjev ali jih celo v celoti nadomesti (Mikuš in sod., 2012). Encimi sicer lahko delujejo samostojno, vendar imajo pogosto pri skupnem delovanju z ostalimi encimi sinergistične učinke, ki prispevajo k še boljšim rezultatom (Miguel in sod., 2013). Različni avtorji poročajo o pozitivnih učinkih uporabe mešanic encimov. Kombinacija amilaz, ksilanaz in lipaz naj bi prispevala k povečanju volumna kruha in izboljšanju trajnosti. Dodatek amilaz in glukoza oksidaz kot nadomestkov za dodatek oksidirajočih sredstev naj bi pomembno izboljšal raztegljivost testa in volumen kruha. Uporaba komercialnih mešanic amilaz in lipaz je izboljšala trajnost kruha z zaviranjem procesa retrogradacije. Kombinacije proteaz in amilaz ali ksilanaz s skupino encimov, ki prispevajo k povezovanju (transglutaminaze in glukoza oksidaze) so prispevale k izboljšanim teksturnim in reološkim lastnostim (Miguel in sod., 2013).

Delovanje askorbinske kisline lahko delno nadomestimo z uporabo encimsko aktivne sojine moke, ki pa ima drugo slabo lastnost, saj je soja eden od alergenih sestavin, ki se jim proizvajalci prav tako skušajo izogniti. Druga možnost je uporaba rastlinskih ekstraktov, ki imajo naravno visoko vsebnost askorbinske kisline – tako se zadnje čase veliko uporablja ekstrakt acerole. Slaba stran teh ekstraktov pa je zelo visoka cena v primerjavi s čisto askorbinsko kislino.

Zelo dobro naravno nadomestilo cisteina, je inaktivni prehranski kvas, ki se v ta namen v pekarstvu čedalje bolj uporablja. Funkcionalna sestavina inaktivnega kvasa je glutation, naravno prisoten peptid, ki je zelo učinkovito reducirno sredstvo. Cistein lahko delno ali v celoti nadomestimo tudi z uporabo encimov, predvsem proteaz in hemicelulaz (Sluimer, 2005).

Poznane so tudi različne metode zaščite izdelkov po pripravi, ki lahko nadomestijo uporabo konzervansov. Tako se za podaljšanje roka trajanja uporablja dodatek alkohola pri pakiranju (npr. toast, biskvitno pecivo) in tako rok trajanja podaljšajo za nekaj mesecev. Veliko študij je opravljenih tudi na preprečevanju razvoja plesni z dodatkom kislega testa (Ryan in sod. 2008, Axel in sod. 2016, Saladino in sod. 2016) in z različnimi naravnimi fermentacijskimi produkti (Samapundo in sod., 2017).

Pri izdelkih z daljšim rokom trajanja se lahko uporabi konzervansov izognemo tudi z uporabo fizikalnih sredstev za preprečevanje razvoja plesni in drugih mikroorganizmov v pekovskih izdelkih. Rok trajanja brez uporabe konzervansov lahko podaljšamo z

zamrzovanjem (tehnologija polpečenih zamrznjenih ali vzhajanih zamrznjenih pekovskih izdelkov). Lahko se uporablja pasterizacija – to je ponovno segrevanje že pakiranih pekovskih izdelkov. Pogoji za učinkovit postopek je ustrezna toplotna obdelava, primerna embalaža in praktično 100 % tesno pakiranje, saj v nasprotnem primeru hitro pride do sekundarne kontaminacije z mikroorganizmi.

Pomembno alternativo dodajanju aditivov predstavljajo različne tehnike pakiranja izdelkov iz žit (vakuumsko pakiranje, pakiranje v modificirani atmosferi). Uporaba modificirane atmosfere (MAP) je ena od najbolj uveljavljenih tehnik pakiranja v živilski industriji. Pakiranje v modificirano atmosfero je definirano kot pakiranje živilskih izdelkov v embalažno enoto iz neprepustnega embalažnega materiala, v kateri je spremenjena sestava plinske faze z namenom zmanjševanja intenzitete dihanja, omejevanja rasti mikroorganizmov in zaviranja encimske aktivnosti ter posledično podaljševanja trajnosti izdelka (Galić in sod., 2009). Uspešnost pakiranja v modificirano atmosfero, ki pri izdelkih iz žit zavira oz. preprečuje pojav plesni, je pogojena s sestavo atmosfere, prepustnostjo embalažnega materiala, uspešnostjo evakuacije kisika iz embalažne enote in uspešnostjo zapiranja embalažne enote. Pri pakiranju pekovskih izdelkov je priporočena uporaba mešanice CO₂ in N₂ (najpogosteje v razmerju 60 % proti 40 %), kjer ima CO₂ pomembno fungistatično in bakteriostatično vlogo. Različni avtorji poročajo, da je samo uporaba MAP (brez kemijskih dodatkov) uspešno podaljšala trajnost različnih izdelkov iz žit (Galić in sod., 2009). Za vzdrževanje spremenjene sestave plinske faze v embalažni enoti je potrebno zagotoviti ustrezno kakovost embalažnih materialov, ki so praktično vedno večplastni in vsebujejo različne vrste bariernih plasti.

Uspešno preprečevanje rasti plesni pri pakiranih pekovskih izdelkih je povezano z rezidualno vsebnostjo kisika v embalažni enoti, ki mora biti manjša od 1 % (Galić in sod., 2009). Večina pekovskih izdelkov ima značilno porozno strukturo, ki zadržuje ostanke kisika tudi po aplikaciji modificirane atmosfere. Ustrezno pakiranje bi moralo biti izvedeno v dveh fazah: v prvi fazi evakuacija plina iz embalažne enote (vakuumiranje) in šele nato prepričevanje z modificirano atmosfero, saj se brez predhodnega vakuumiranja po določenem času v embalažni enoti vzpostavi ravnotežna sestava, ki lahko vsebuje kar nekaj odstotkov kisika. Ta problem je možno uspešno rešiti z uporabo t.i. aktivnega pakiranja, kjer lahko dodatki (v primeru pekovskih in drugih žitnih izdelkov lovilci kisika) absorbirajo ostanke kisika v embalažni enoti in zagotovijo ustrezno sestavo plinske faze. Na trgu je prisotnih že veliko komercialnih lovilcev kisika, ki imajo določeno kapaciteto vezave kisika in jih lahko dodajajo v embalažno enoto v obliki vrečk ali nalepk (Galić in sod., 2009).

Alternativno možnost podaljšanja roka trajanja izdelkov predstavlja tudi antimikrobno pakiranje kot pomembna oblika aktivnega pakiranja, pri čemer se iz embalažnega materiala sproščajo hlapne antimikrobne snovi. Tako so se hlapne komponente različnih začimb izkazale kot učinkovite pri preprečevanju plesnenja kruha (Jideani in sod., 2016).

10 ZAKLJUČEK

Vedno bolj aktualne so zahteve potrošnikov, ki želijo izdelke brez različnih dodatkov, kljub temu da regulativa na področju mnogih aditivov, ki jih uporablja industrija, dovoljuje doziranje po principu »quantum satis« (po potrebi), kar lahko implicira, da so znanstvena in strokovna mnenja enotna in sicer, da aditivi niso zdravju škodljivi. Kljub temu je s tehnološkega vidika potrebno zagotavljati kompenzacijo nihanj v kakovosti

osnovnih surovin, optimizacijo in ekonomičnost procesov proizvodnje, vrhunsko in konstantno kakovost, trajnost in svežino končnih izdelkov ter prilagodljivost tržnim zahtevam po novih, tehnološko zahtevnejših proizvodih. Del proizvodnje bo najverjetneje še vedno posegal po konvencionalnih aditivih, pomembno pa je, da obstaja alternativa, ki je bistveno bližje statusu »clean label« in omogoča adekvatno nadomeščanje klasičnih E aditivov. Uporaba že uveljavljenih encimov, ki lahko rešijo večino tehnoloških zagat, v kombinaciji z novimi, morda še bolj specifičnimi encimi, omogoča pripravo že znanih izdelkov ter razvoj novih, s prehransko vlaknino obogatenih izdelkov, izdelkov z veliko vsebnostjo prebiotičnih polisaharidov, brezglutenskih izdelkov in še kaj (Miguel in sod., 2013). Podobnim zahtevam ustreza tudi uporaba kislega testa, ki s svojo kompleksno sestavo prispeva k reševanju raznolikih tehnoloških težav (Arendt in sod., 2007). Poznane so tudi možnosti uporabe fizikalnih metod obdelave izdelkov ali različni moderni načini pakiranja.

Znanstven razvoj poteka v smeri selekcije novih encimov iz različnih virov, ki imajo tudi pri bolj zahtevnih okoljskih pogojih večjo aktivnost, uporabo rekombinantnih proteinov iz genetsko modificiranih organizmov in drugo. Veliko obetajo npr. psihrofilni encimi, ki imajo pri relativno nizkih temperaturah obdelave testa (35 °C) bistveno večjo aktivnost kot mezofilni encimi in bi jih zato lahko uporabljali manjše količine. Pri razvoju novih biomolekul za različne, tudi industrijske aplikacije, se je kot izjemno uspešna izkazala uporaba tehnike ti. usmerjane evolucije (directed evolution), ki omogoča razvoj encimatskih aktivnosti, ki jih v naravi še ne poznamo (Packer in Liu, 2015). Z usmerjano evolucijo v kombinaciji z drugimi tehnikami so razvili industrijsko uporabne encime s toleranco do velikih koncentracij substrata, dolge stabilnosti pri visokih temperaturah in želeno specifičnostjo oz. selektivnostjo (tudi s konkretnimi izboljšavami na področju proizvodnje izdelkov iz žit) (Miguel in sod., 2013).

Na drugi strani smo priča trendom, ko množica ljudi spreminja prehranske navade ne glede, da zato nimajo nikakršnih zdravstvenih razlogov. Izbira alternativnega, po prepričanju mnogih bolj zdravega načina prehranjevanja z npr. brezglutensko dieto pomeni, da pristajajo na uporabo večje količine različnih aditivov, ki so glede na današnje tehnološke možnosti nujno potrebni za proizvodnjo takih izdelkov. V ZDA se je prodaja brezglutenskih živil v zadnjih letih močno povečala (približno tretjina prebivalcev ZDA je pripravljenih izločiti gluten iz svoje prehrane) kot posledica prepričanja, da lahko z izločanjem glutena iz dnevnih obrokov veliko naredijo za svoje zdravje in lažje obvladujejo telesno težo oz. shujšajo (Molina-Infante in sod., 2015).

Razvojnih smeri v industriji predelave žit je več. Prav gotovo je ena od teh zmanjševanje ali celo popolno izključevanje aditivov, kar zahteva zelo dobro poznavanje proizvodnega procesa in osnovnih surovin. Tak način proizvodnje zahteva konstantno kakovost osnovne surovine, natančno nadzorovane osnovne parametre procesa kot so temperature, časi in tudi sodobno tehnološko opremo. Zato pa morajo imeti proizvodni obrati svoje razvojne in kontrolne laboratorije ter strokovnjake tehnologe, ki lahko s svojim znanjem obvladujejo kompleksne tehnološke procese.

11 VIRI

- Arendt E. K., Ryan L. A. M., Dal Bello F. 2007. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24: 165–174
- Axel C., Brosnan B., Zannini E. Peyer L. 2016. Antifungal activities of the three different *Lactobacillus* species and their production of antifungal carboxylic acids in wheat sourdough. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100: 1701 – 1711

- Brose E., Becker G., Bouchain W. 1996. Chemical leavening agents. Budenheim, Chemische Fabrik Budenheim Rudolf A. Oetker: 80 str.
- Bruemmer J.M., Wisker E., Feldheim W. 1996. Brot. Auswertungs- und Informationsdienst fuer Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (aid): 41 str.
- Chemical leaveners. 1996. Lallemand Baking Update, 1, 12: 2 str. http://www.lallemand.com/BakerYeastNA/eng/PDFs/LBU%20PDF%20FILES/1_12CHEM.PDF (maj 2017)
- De Leyn I. 2006. Functional additives. V: Bakery products science and technology. Hui Y. H. (ed.) Oxford, Blackwell Publishing: 233-242
- Fagoni P. 2008. How baking works - exploring the fundamentals of baking science. 2nd ed. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons: 399 str.
- Ferrero C. 2017. Hydrocolloids in wheat breadmaking: a concise review. Food Hydrocolloids, 68: 15-22.
- Flack E. 1997. Emulsions and emulsifiers. V: The technology of cake making 6th ed. Bent A. J. (ed.). Bristol, Blackie Academic and Professional: 112-120
- Gallagher E. 2009. Improving gluten-free bread quality through the application of enzymes. Agro Food Industry Hi-tech, 20: 34-37
- Gänzle M., Ripari V. 2016. Composition and function of sourdough microbiota: from ecological theory to bread quality. International Journal of Food Microbiology, 239: 19-25
- Gray J.A., Bemiller J.N. 2003. Bread staling: molecular basis and control. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2:1-21
- Guynot M.E., Ramos A.J., Sanchis V., Marin S. 2005. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4,55,5). International Journal of Food Microbiology, 101: 161-168
- Hrušková M., Novotná D. 2003. Effect of ascorbic acid on the rheological properties of wheat fermented dough. Czech Journal of Food Sciences, 21: 137-144
- Smith J. P., Phillips Daifas D., El-Khoury W., Koukoutsis J., El-Khoury A. 2010. Shelf life and safety concerns of bakery products—a review: 19-55. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15077880> (maj 2017)
- Jideani V.A., Vogt K. 2016. Antimicrobial packaging for extending the shelf life of bread—a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56: 1313-1324
- Joye I., Lagrain B., Delcour J.A. 2009. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking – a review. Journal of Cereal Science, 50: 11-21
- Knightly W. H. 1996. Surfactants. V: Baked goods freshness. Hebeda R. E., Zobel H.F. (eds.). New York, Marcel Dekker: 65-104
- Kohajdová Z., Karovičová J., Schmidt Š. 2009. Significance of emulsifiers and hydrocolloids in bakery industry. Acta Chimica Slovaca, 2, 1: 46 – 61
- Lopes Almeida E., Steel C. J., Chang Y. K. 2016. Par-baked bread technology: formulation and process studies to improve quality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56: 70-81
- Marin S., Abellana M., Rubinat M., Sanchis V., Ramos A.J. 2003. Efficacy of sorbates on the control of the growth of Eurotium species in bakery products with near neutral pH. International Journal of Food Microbiology, 87: 251 – 258
- Matos M. E., Rosell C. M. 2015. Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95: 653-661
- Matz S. A. 1992. Bakery technology and engineering. 3rd ed. New York, Springer, Avi Book: 853 str.
- Messens W., De Vuyst L. 2002. Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs—a review. International Journal of Food Microbiology, 72: 31– 43
- Miguel A. S. M., Martins-Meyer T. S., Verissimo da Costa Figueiredo E., Waruar Paulo Lobo B., Dellamora-Ortiz G. M. 2013. Enzymes in bakery: current and future trends. V: Food industry. Muzzalupo I. (ed.), InTech: 287-321, doi: 10.5772/53168. Dostopno na: <https://www.intechopen.com/books/food-industry/enzymes-in-bakery-current-and-future-trends> (maj 2017)
- Mikuš L., Dodok L., Kováčová M., Staruch L., Koman V. 2012. Bakery enzymes in cereal technologies. Potravinarstvo, 6, 3: 10-15
- Mir S. M., Shah M. A., Naik H. R., Zargar I. A. 2016. Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. Trends in Food Science & Technology, 51: 49-57
- Molina-Infante J., Santolaria S., Sanders D. S., Fernandez-Banares F. 2015. Systematic review: noncoeliac gluten sensitivity. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 41: 807-820
- Octaviani Selomulyo V., Zhou W. 2007. Frozen bread dough: effects of freezing storage and dough improvers. Journal of Cereal Science, 45: 1-17

- Packer M. S., Liu D. R. 2015. Methods for the directed evolution of proteins. *Nature Reviews Genetics*, 16, 7: 379-394
- Pop G. 2007. Researches regarding the chemical leavening agents' role in quality of bakery products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 13, 1: 105-112
- Popper L. 2006. Flour treatment. V: *Future of flour – a compendium of flour improvement*. Popper L.(ed.), Schafer W. (ed.), Freund W. (ed.), Bergen/Dumme, AgriMedia: 221-286
- Reducing Agents. 2011 Lallemand Baking Update, 1, 7: 2 str. <http://www.lallemandbaking.com/wp-content/uploads/2013/07/Vol.-1-No7-Baking-Update-Reducing-Agents.pdf>, (maj 2017)
- Ribotta P. D., Perez G. T., Leona A. E., Anon M. C. 2004. Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. *Food Hydrocolloids*, 18: 305–313
- Rizzello C.G., Cassone A., Di Cagno R., Gobbetti M. 2008. Synthesis of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides and -aminobutyric acid (GABA) during sourdough fermentation by selected lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 6936–6943
- Saha D., Bhattacharya S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 6: 587–597
- Saladino F., Luz C., Manyes., Fernandez Franzon M., Meca G. 2016. In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement. *Food Control*, 67: 273 – 277
- Samapundo S., Devlieghere F., Vroman A., Eeckhout M. 2017. Antifungal activity of fermentates and their potential to replace propionate in bread. *LWT – Food Science and Technology*, 76: 101 – 107
- Selomulyo V. O., Zhou W. 2007. Frozen bread dough: effects of freezing storage and dough improvers. *Journal of Cereal Science*, 45: 1–17
- Sluimer P. 2005. Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps. St. Paul, American Association of Cereal Chemists: 224 str.
- Suhr K.L., Nielsen P.V. 2004. Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values. *International Journal of Food Microbiology*, 95: 67-78
- Tašner L. 2007. E-dodatki v živilih za pekarstvo in slaščičarstvo. V: *E-dodatki v živilstvu in prehrani*. Vomberger B., Nidorfer M. (ur.). Maribor, Živilska šola Maribor, OE Višja strokovna šola: 26-32
- Tiekink M., Ganzle M. G. 2005. Exopolysaccharides from cereal-associated lactobacilli. *Trends in Food Science & Technology* 16: 79–84
- Uredba (ES) št. 133/2008 Evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. 2008. Uradni list Evropske unije, L 354: 16-33
- Valerio F., De Bellis P., Lonigro S.L., Visconti A., Lavermicocca P. 2008. Use of *Lactobacillus plantarum* fermentation products in bread-making to prevent *Bacillus subtilis* spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 238-332
- Wang S., Li C., Copeland L., Niu Q., Wang S. 2015. Starch retrogradation: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14: 568-585

VPLIVI IZBRANIH ADITIVOV NA ZDRAVJE

Saša ILOVAR¹, Anija OREL² in Rok OREL³

Povzetek: Aditivi v hrani niso namenjeni samo večanju privlačnosti končnega izdelka za potrošnika (npr. ojačevalci okusa in barvila), ampak v veliki meri tudi kakovosti in varnosti hrane (npr. konzervansi, antioksidanti) in celo pokrivanju posebnih zdravstvenih potreb oz. zmanjševanju neželenih učinkov naravne hrane (umetna sladila). Kot vse kemične snovi, lahko tudi številni aditivi povzročajo neželene učinke, zlasti kadar jih uživamo v velikih količinah. Nekateri aditivi se uporabljajo že stoletja, drugi so plod sodobnega razvoja znanosti. Vsi pa so podvrženi strogi presoji varnosti, ki temelji na analizah rezultatov kakovostnih znanstvenih raziskav in na podlagi katere je oblikovana mednarodna regulativa, ki določa, kateri aditivi v hrani so dovoljeni, kakšna je njihova največja dovoljena koncentracija ali dnevni vnos, kako mora biti njihova vsebnost označena na ovojninah prehranskih izdelkov itd. Podatki o potencialni škodljivosti nekaterih aditivov, ki zelo burijo laične javnosti, dostikrat izvirajo iz poskusov na živalih, ki so jim dajali količine, ki izjemno presegajo tiste, ki jih uživajo ljudje. Zato večine teh neželenih učinkov pri ljudeh niso zasledili. Bolj pogosto se neželeni učinki pojavljajo pri ogroženih skupinah, kot so zelo majhni otroci z nezrelo presnovo, atopiki oz. alergiki in osebe s specifičnimi pomanjkanji določenih presnovnih encimov. V prispevku so opisani potencialni neželeni zdravstveni učinki nekaterih pogosto uporabljenih aditivov, kot so natrijev benzoat, umetna barvila, natrijev glutamat, nitrati in nitriti, sulfiti in umetna sladila.

Ključne besede: aditivi, stranski učinki, neželeni učinki

EFFECTS OF SELECTED ADDITIVES ON HEALTH

Abstract: Additives in food do not just increase the attractiveness of the finished product to the consumer (eg. flavor enhancers and colors) but to a large extent the quality and safety of food (eg. preservatives, antioxidants) and even meet the particular health needs and reduce the adverse effects of natural food (artificial sweeteners). Like all chemical substances, additives may also cause adverse effects, especially when they are consumed in large amounts. Some additives have been used for centuries, others are the result of the development of modern science. All additives are subject to rigorous safety assessment based on the analysis of the results of high-quality scientific research and on the basis of which it is designed international regulations that specify which additives in food are allowed, what is their maximum permissible concentration or daily intake, how should be their content marked on the packaging of products, etc. Information about the potential harmfulness of certain additives, which bothers lay public, often originates from experiments on animals using quantities that significantly exceed those enjoyed by people. Therefore, most of these adverse effects have not been seen in humans. More frequently adverse events occur in at-risk groups, such as very young children with immature metabolism, atopic and allergic individuals and people with deficiencies of specific metabolic enzymes. The paper describes the potential adverse health effects of some commonly used additives such as sodium benzoate, artificial colors, monosodium glutamate, nitrates and nitrites, sulfites and artificial sweeteners.

Key words: food additives, side effects, adverse effects

¹ dr. med., Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, e-mail: sasa.ilovar@gmail.com

² asist., Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, e-mail: anya070@gmail.com

³ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta in Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, e-mail: rok.orel@kclj.si

1 UVOD

Najpomembnejši pogoj za uporabo aditivov v živilih je, da le-ti ne škodujejo zdravju ljudi. Kljub nasprotnemu prepričanju laikov, lahko na podlagi znanih dejstev trdimo, da je stopnja tveganja pri uživanju aditivov v hrani dokaj nizka (Taylor in Baumert, 2011). Uporaba aditivov v prehranski industriji je striktno regulirana, v Evropski uniji (EU) z zakonodajo, ki je bila sestavljena na podlagi presoje o varnosti aditivov za uporabo glede na njihov vpliv na zdravje ljudi (Uredba (ES) št. 1333/2008). Presoj o varnosti aditivov, ki se trenutno lahko uporabljajo v prehranski industriji v EU, sta opravila Znanstveni odbor za hrano (ang. *Scientific Committee on Food*, SCF) in Evropska agencija za varnost hrane (ang. *European Food Safety Authority*, EFSA). Večina prehranskih aditivov je bila glede varnosti presojana okrog leta 1980, od takrat pa so bile opravljene različne znanstvene raziskave, ki so odobritev nekaterih aditivov postavile pod vprašaj, zato je EFSA pričela ponovno vrednotenje, ki ga bodo dokončali do leta 2020 in na podlagi le-tega ustrezno spremenili zakonodajo s pogoji za uporabo določenih aditivov oz. nekatere po potrebi dodali ali umaknili s seznama odobrenih aditivov za živila v EU.

Od več tisoč aditivov, ki se redno uporabljajo v prehranski industriji, jih je le manjši delež prepoznanih kot možnih povzročiteljev neželenih učinkov. Znano je, da so nekatere skupine ljudi, kot so atopiki, astmatiki na terapiji s kortikosteroidi, majhni otroci, tisti z nižjo aktivnostjo določenih presnovnih encimov itd, bolj ogrožene za pojav neželenih učinkov nekaterih specifičnih aditivov (Taylor in Baumert, 2011; Skypala in sod., 2015; Buka in sod., 2011).

Med neželenimi učinki aditivov na zdravje ločujemo akutne in kronične. Akutni neželeni učinki so veliko bolj znani, saj so navadno bolj burni in jih zaradi manjše časovne vrzeli med uživanjem hrane, ki tak aditiv vsebuje, in pojavom simptomov, lažje vzročno povežemo. Med najpogostejšimi neželenimi učinki so alergijske reakcije, poslabšanje astme, glavobol, vedenjske in nevrološke težave, gastrointestinalne težave, hormonske ter imunološke spremembe in celo karcinogenost (Taylor in Baumert, 2011; Skypala in sod., 2015; Buka in sod., 2011; McCann in sod., 2007). V prispevku bomo opisali nekaj najpomembnejših izsledkov o neželenih učinkih izbranih aditivov (benzoata, umetnih barvil, natrijevega glutamata, nitratov in nitritov, sulfitev, umetnih sladil) na zdravje.

2 UČINKI ADITIVOV NA ZDRAVJE

Številni prehranski aditivi imajo pozitivne učinke in so pri sodobnem načinu življenja skorajda nujni, saj hrano dolgoročno zaščitijo pred mikrobiološko kontaminacijo (*Clostridium botulinum*, *Salmonella spp.*) ali pred oksidacijskimi procesi, katerih produkti so ob dolgotrajnem vnosu lahko kancerogeni za ljudi. Nekatere izmed snovi, ki se uporabljajo kot aditivi, se lahko v naravni obliki v precej veliki količini nahajajo tudi v nekaterih svežih nepredelanih živilih, ali pa v njih nastajajo ob procesih staranja (Taylor in Baumert, 2011; Sieber in sod. 1989; Yamaguchi in Ninomiya, 2000). Tudi vitamini in minerali, kot so vitamini A, C, D, E, tiamin, niacin, riboflavin, piridoksin, folna kislina, kalcijev karbonat, cinkov oksid in železo, ki izboljšajo hranilno vrednost živil, se lahko štejejo med aditive. Res pa je, da je lahko dolgoročno močno prekoračen dnevni vnos nekaterih od teh snovi in njihovo kopičenje v telesu tudi pripelje do poškodb organizma. Znani so primeri otrok, ki so uživali velike količine hrane, ki vsebuje veliko vitamina A in karotenoidov (jetra, korenje), zraven pa še vitaminska prehranska dopolnila, pri katerih je prišlo do kronične zastrupitve z vitaminom A (Taylor, 2002).

Akutne neželene reakcije na aditive pa so po navadi posledica prekomerne zaužite količine ter napačne uporabe hranil z aditivi, ali pa večje občutljivost posameznikov (Uredba (ES) št. 1333/2008). Mehanizmi nastanka teh reakcij so lahko imunsko pogojeni ali pa gre za druge oblike preobčutljivosti, npr. za pomanjkanje določenih presnovnih encimov. V večini primerov pa točni mehanizmi nastanka neželenih učinkov niso znani.

Natrijev benzoat (E211) je konzervans, ki zavira rast bakterij in gliv v kislem okolju. Zaradi protimikrobnih učinkov ga v večjih količinah dodajajo v pijače in hrano, predvsem tistim s kislim pH. Najdemo ga v sadnih sokovih, gaziranih pijačah, marmeladi, čokoladi, sladoledih, solatnih prelivi, vloženi zelenjavi, včasih celo v pekarskih izdelkih (Uredba (ES) št. 1333/2008). Čeprav ima po dokumentih ameriške FDA (Food and Drug Administration) benzoat status GRAS (generally accepted as safe) in po izsledkih mednarodnih raziskav o varnosti uporabe dnevni vnos do 800 mg/kg telesne mase pri ljudeh ne povzroča neželenih učinkov, se lahko le-ti pojavljajo pri preobčutljivih ljudeh. Pri teh lahko uživanje benzoata povzroči alergijske reakcije od koprivnice, atopičnega dermatitisa, angioedema, astme, rinitisa do anafilaktičnega šoka, čeprav o tem obstaja zelo malo objektivnih dokazov. V nekaj študijah so ga izpostavili tudi, zlasti v kombinaciji z umetnimi barvili, kot aditiv, ki povzroča hiperaktivnost pri otrocih (McCann in sod., 2007). Rezultati randomiziranih raziskav s provokacijo in eliminacijo so bili nasprotujoči, tudi v skupnem je bil odstotek povezanosti simptomov z uživanjem benzoata nizek. Pri kombinaciji benzoata z askorbinsko kislino (vitaminom C) lahko v živilih začne nastajati benzen, ki je karcinogen. Raziskave pa so pokazale, da so količine nastalega benzena občutno premajhne, da bi lahko pomembno ogrožale zdravje (FDA, 2007).

Umetna barvila služijo ustvarjanju privlačnejšega videza hrane. Študije na mikroorganizmih in glodalcih kažejo, da imajo lahko nekatera barvila, če so navzoča v večjih količinah, toksične, karcinogene in mutagene učinke (Kobylewski in Jacobson, 2012). Raziskave pri ljudeh pa nakazujejo tudi možnosti škodljivih imunskih reakcij na umetna barvila, vpliv na prepustnost črevesne sluznične pregrade in na absorpcijo hranil (Kobylewski in Jacobson, 2012) ter pojav vedenjskih motenj pri otrocih (Buka in sod., 2011; McCann in sod., 2007; Stevens in sod., 2013). Leta 2007 je randomizirana študija McCannove in sodelavcev pokazala, da pri otrocih brez anamneze vedenjskih težav mešanica benzoata in določenih umetnih barvil povzroča hiperaktivnost (McCann in sod., 2007). Že pred objavo te študije je bilo zaradi dokazanih škodljivih učinkov nekaj umetnih barvil prepovedanih, po objavi teh rezultatov pa je EFSA po večletni reevaluaciji 41 barvil znižala dovoljene maksimalne vsebnosti treh barvil v živilih (E104, E110 in E124) ter na trgu prepovedala uporabo barvila Red 2G (E128) (EFSA, 2008; EFSA, 2016).

Natrijev glutamat (E621) je eden najbolj pogosto uporabljanih ojačevalcev okusa. Je sol ene najpogostejših aminokislin, glutaminske kisline. Zato se v razmeroma velikih količinah pojavlja tudi v naravni hrani, brez da bi ga dodajali. Veliko ga je v zrelem sadju in prekajenih ter sušenih mesnih izdelkih. Že stoletja se uporablja v tradicionalni vzhodnoazijski kuhinji. Japonci trdijo, da ima glutamat poseben okus, imenovan umami, ki je drugačen od drugih osnovnih okusov, sladkega, slanega, kislega in grenkega (Torii in sod., 2013). Sprva so ga pridobivali iz alg in morske trave, danes pa se večinoma sintetizira kemično. Glutamat je pogosto dodan vnaprej pripravljeni zmrznjeni ali konzervirani hrani, juham in solatnim prelivi. Prvi opis škodljivih učinkov glutamata v literaturi so poimenovali »sindrom kitajskih restavracij« (Kwok, 1968). Klinični simptomi, kot so glavobol, vrtoglavica, mravljinčenje in zardevanje se pojavilo 15 minut do ene ure po zaužitju glutamata. Poleg glavobola in različnih alergijskih simptomov naj

bi glutamat povzročal tudi psihične motnje, konvulzije ter povišan krvni tlak (Gray, 1996). Dokazi o povezavi med uživanjem glutamata in različnimi simptomi so šibki, najprepričljivejša je povezava uživanja glutamata z glavoboli (Gray, 1996). Kljub temu pa je delež ljudi, ki dobijo glavobol po uživanju glutamata tako majhen, da ne priporočajo, da bi bolnikom z glavobolom rutinsko svetovali izogibanje glutamatu (Yang in sod., 1997). Zanimivo je, da so znanstveniki nedavno našli v črevesu posebne receptorje za glutamat (Torii in sod., 2013). Pri poskusnih živalih je vezava glutamata nanje povzročila preko živčnih povezav aktivacijo določenih centrov v možganih, ki vplivajo na termogenezo in občutek lakote, tako da se je zmanjšala koncentracije leptina v krvi, kopičenje maščob in pridobivanje na telesni masi pa je bilo manjše kljub prekomernemu energijskemu vnosu.

Nitriti in nitriti so kot konzervansi in barvilo dodani procesiranemu sušenemu mesu in ribam. Zlasti pomembni so zato, ker v mesnih izdelkih preprečujejo rast sporogene bakterije *Clostridium botulinum*, katere toksin povzroča hudo zastrupitev z možnim smrtnim izidom. Toksin blokira sproščanje živčnega prenašalca acetilholina v živčno mišičnih stikih, zato se pojavi paraliza mišic z dihalno odpovedjo (Sobel, 2005). V prisotnosti visoke vročine se nitriti kombinirajo z amini v mesu, ob čemer nastanejo nitrozamini, ki jih povezujejo z nastankom raka na trebušni slinavki, želodcu in debelem črevesju (Honnikel, 2008; Scanlan, 1983). Študije kažejo, da so lahko nitrozamini dodani visoko beljakovinskemu živilu, naknadno obdelanemu na visoki temperaturi, potencialno kancerogeni. Zato tudi dodajanje nitritov in nitratov v živila povezujejo s kancerogenostjo (Bouvard in sod., 2015; Sandhu in sod., 2001; Ward in sod., 2010; Larsson in sod., 2006). Zavedati pa se je potrebno, da telo nitrite pravzaprav potrebuje in so v veliki meri naravno prisotni v sveži zelenjavi, pri obdelavi katere ob nizki vsebnosti beljakovin in brez izpostavljenosti visoki vročini do nastanka nitrozaminov načeloma ne pride.

Sulfiti se uporabljajo kot konzervansi (bakteriostatični učinki), preprečevalci spreminjanja barve in antioksidanti. Največ sulfitov dodajajo belemu vinu, jabolčniku (ciderju) in suhemu sadju. Brez žveplanja bi iz vina hitro nastal kis, saj le-to preprečuje rast bakterij in zmanjšuje oksidacijo. Pri občutljivih posameznikih se zaradi zaužitih sulfitov lahko pojavijo alergijski simptomi kot urtikarija, angioedem, rinitis, atopični dermatitis in poslabšanje astme. Po izsledkih nekaterih raziskav naj bi pri 3–10 % bolnikov z astmo prišlo do poslabšanja ob uživanju sulfitov (Vally in Misso, 2012). Sulfiti prištevajo med deset najpogostejših prehranskih alergenov, čeprav verjetno vse neželene reakcije na sulfiti niso alergijske narave. Že v 80-tih letih prejšnjega stoletja so zbrali toliko dokazov o škodljivih reakcijah na sulfiti, da so tako ameriški kot evropski regulatorji izdali navodila o omejeni rabi sulfitov in obveznem označevanju na embalaži živil, kadar njihova koncentracija presega 10 mg/kg (FDA, 1986).

Umetna sladila služijo kot nadomestek sladkorja v živilih. Najdemo jih v sladkih pijačah brez dodatka sladkorja, žvečilnih gumijih, bonbonih, instant sladica in v večini živil z oznako »dietna živila«. Umetna sladila povzročijo nižji porast glukoze v krvi po zaužitju kot sladkor, zato so primerna tudi za diabetike. Med neželenimi učinki naj bi umetna sladila povzročala glavobol, motnje razpoloženja, slabost, omotičnost, nezbratost, opisovali so celo kancerogenost (Tandel, 2011; Kroger in sod., 2006). Tako naj bi npr. eno izmed najstarejših umetnih sladil, saharin, v laboratorijskih pogojih in v zelo velikih odmerkih povzročal raka na mehurju pri poskusnih živalih, a ker ga ljudje uživajo v mnogo manjših količinah je verjetnost za nastanek raka verjetno minimalna ali nična. Tudi aspartamu so pripisovali številne neželene učinke, a jih kljub številnim raziskavam, znanstveno niso potrdili. Izjemo predstavljajo bolniki z avtosomno

recesivno dedno presnovno motnjo fenilketonurijo, pri katerih lahko aspartam, ki vsebuje okrog 50 % aminokislina fenilalanin, povzroča okvare različnih organov, predvsem osrednjega živčevja. Dokazi o povezavi med uživanjem umetnih sladil in različnimi simptomi in boleznimi so torej zelo dvomljivi (Kroger in sod., 2006), po dodatni znanstveni presoji in preučitvi vseh rezultatov študij pa je v Evropi in ZDA trenutno odobrenih šest nizkokaloričnih sladil, in sicer stevija, acesulfam-K, aspartam, neotam, saharin in sukraloza (Kroger in sod., 2006). Kot sladila se uporabljajo tudi nekateri naravni poliol, predvsem sorbitol. Najdemo ga v številnih vrstah koščičastega sadja, v industrijske namene pa ga večinoma pridobivajo iz koruznega sirupa. Čeprav je njegova energijska gostota le nekaj manjša kot pri saharozi, se v črevesu slabo absorbira. Zaužitje preko 20 g na dan lahko povzroči ozmotsko drisko (Taylor, 2002). Opažajo pa, da pri nekaterih ljudeh s funkcionalnimi gastrointestinalnimi motnjami, kot je sindrom razdražljivega črevesa, lahko povzročajo že običajne količine sorbitola pojav simptomov, kot so napihnjenost, vetrovi in driska. Vzrok zato je verjetno v fermentaciji sorbitola s strani črevesnih mikroorganizmov.

3 ZAKLJUČEK

Uporaba aditivov v prehranski industriji je natančno regulirana. Predpisi zahtevajo natančno upoštevanje maksimalnih dovoljenih vsebnosti določenih aditivov in beleženje navzočnosti aditivov na embalaži živil (Uredba (ES) št. 1333/2008). Zakonodaja in nadzor prehranske industrije skrbita za to, da je dandanes uporaba živil, ki vsebujejo aditive, varna.

Regulativni predpisi uporabe aditivov v prehranski industriji so osnovani na podlagi strokovne presoje, kljub temu pa so aditivi še vedno ena izmed najbolj kontroverznih tem. Ogromno znanstvenih raziskav je bilo izpeljanih z namenom razjasnitve vprašanja o varnosti uporabe določenih aditivov v živilih na zdravje ljudi in zaključki raziskav so bili občasno nasprotujoči, kar je sprožilo še večje dvome in strah pri potrošnikih. Strokovnjaki opozarjajo, da je kvalitetne študije na področju aditivov zelo težko izvesti. Večina do sedaj izvedenih znanstvenih študij ima več omejitev in pomanjkljivosti – ogromno raziskav je bilo opravljenih le na živalskih modelih in ne pri ljudeh, večkrat je bilo število preiskovancev (vzorec) zelo majhno, doze uporabljenih aditivov so bile zelo visoke (višje od zakonsko maksimalno dovoljenih), nekateri rezultati sploh niso bili statistično pomembni. Ustrezno testiranje učinka aditivov v hrani na zdravje je še posebej zahtevno, saj hrane ne uživamo v obliki tablet ali kapsul (Orel, 2016).

Inštitucije, odgovorne za sprejemanje regulativnih predpisov, so vse izsledke raziskav strokovno analizirale in uporabo nekaterih aditivov striktno prepovedale, nekaterih omejile, varnost nekaterih aditivov pa zaenkrat še preiskujejo. Novi raziskovalni izsledki usmerjajo trenutno zakonodajo, ki jo EFSA stalno posodablja z namenom zagotavljanja varnosti živil.

Nekateri dvomljivci pa v zadnjem času predvsem poudarjajo tudi dejstvo, da so dandanašnje raziskave na področju aditivov izvedene večinoma kot študije vpliva izoliranega enega aditiva na zdravje, medtem ko ljudje v prehrani čez dan zaužijemo mešanico različnih aditivov. Nedavna študija *National Food Institute* na Tehnični univerzi na Danskem je namreč pokazala, da celo nizki odmerki kemično aktivnih snovi v hrani povečajo učinek druga druge, ko jih kombiniramo (Hadrup in sod., 2016).

Za dokončne zaključke glede vpliva aditivov na naše zdravje bo potrebnih še več natančnejših podatkov in kvalitetnih raziskav. Potrebno se je zavedati, da so aditivi,

dodani v nekaterih živilih, včasih nujni. To pa ne pomeni, da morajo biti prisotni v vsej hrani, ki jo zaužijemo. Tudi v vsakdanji klinični praksi bolnikom z različnimi alergijskimi boleznimi in celo tistim s funkcionalnimi motnjami raje svetujemo, naj se industrijsko predelani hrani izogibajo in naj čim več jedi pripravljajo sami doma, kjer imajo večji nadzor nad sestavo hrane (Orel, 2016).

4 VIRI

- Bouvard V. V., Loomis D., Guyton K. Z., Grosse Y., El Ghissassi F., Benbrahim-Tallaa L., Guha N., Mattock H., Straif K. 2015. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, 16, 16:1599–1600
- Buka I., Osornio-Vargas A., Clark B. 2011. Food additives, essential nutrients and neurodevelopmental behavioural disorders in children: A brief review. *Paediatrics & Child Health*, 16, 7: 54–56
- EFSA. 2008. EFSA evaluates Southampton study on food additives and child behaviour. Vienna, EFSA, 4 str. <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/ans080314> (maj 2017)
- EFSA. 2016. Re-evaluation of food colours: EFSA completes major programme. Vienna, EFSA, 4 str. <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/160914a> (maj 2017)
- FDA. 1986. New sulfite regulations. *FDA Drug Bulletin*, 16: 17–18
- FDA. 2007. Data on Benzene in Soft Drinks and Other Beverages. United States, Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/ChemicalContaminants/ucm055131.htm> (maj 2017)
- Gray D. 1996. Food and Drug Administration Memorandum, glutamate in food. *Federal Register*, 61: 48102–48110
- Hadrup N., Svingen T., Mandrup K., Skov K., Pedersen M., Frederiksen H., Frandsen H. L., Vinggaard A. M. 2016. Juvenile Male Rats Exposed to a Low-Dose Mixture of Twenty-Seven Environmental Chemicals Display Adverse Health Effects. *PLoS One*, 11, 9: e0162027, doi: 10.1371/journal.pone.0162027
- Honnikel G. O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78, 1-2: 68–76
- Kobylewski S., Jacobson M. F. 2012. Toxicology of food dyes. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 18, 3: 220-246
- Kroger M., Meister K., Kava R. 2006. Low calorie sweeteners and other sugar substitutes: A review of the safety issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5: 35–47
- Kwok R. 1968. Chinese restaurant syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 278: 796.
- Larsson S. C., Bergkvist L., Wolk A. 2006. Processed meat consumption, dietary nitrosamines and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. *International Journal of Cancer*, 119, 4: 915-919
- McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E., Sonuga-Barke E., Warner J. O., Stevenson J. 2007. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370, 9598: 1560–1567
- Orel R. 2016. Škodljive reakcije na hrano. *Kongres Gaster Felix*, 6 str.
- Sandhu M. S., White I. R., McPherson K. 2001. Systematic Review of the Prospective Cohort Studies on Meat Consumption and Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 10, 5: 439-446
- Scanlan R. A. 1983. Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Cancer Research*, 43, 5: 2435-2440
- Sieber R., Butikofer U., Bosset J. O., Rugg M. 1989. Benzoic acid as a natural component of foods—a review. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 80: 345–362
- Skypala I. J., Williams M., Reeves L., Meyer R., Venter C. 2015. Sensitivity to food additives, vaso-active amines and salicylates: a review of the evidence. *Clinical and Translational Allergy*, 5: 34
- Sobel J. 2005. Botulism. *Clinical Infectious Diseases*, 41, 8: 1167–73
- Stevens L. J., Kuczek T., Burgess J. R., Stochelski M. A., Arnold L. E., Galland L. 2013. Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. *Nutrition Reviews*, 71: 268-281
- Taylor SL, Baumert JL. Food additives, contaminants, and natural toxicants: maintaining a safe food supply. 2011. V: *Modern nutrition in health and disease*. 11th ed. Caballero B., Cousins R. J. Ross A. C., Tucker K. L., Ziegler R. Z. (eds.). Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott, 1407-1419
- Tandel K. R. 2011. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 2, 4: 236–243
- Taylor S. I. 2002. Chemical intoxications. V: *Foodborne diseases*. 2nd edition. Cliver D. O., Riemann H. P. (eds.). San Diego, Academic Press.: 475-486
- Torii K., Uneyama H., Nakamura E. 2013. Physiological roles of dietary glutamate signaling via gut–brain axis due to efficient digestion and absorption. *Journal of Gastroenterology*, 48: 442–451

- Uredba (ES) št. 1333/2008 iz 16. decembra 2008 zadevajoč uporabo aditivov. Uradni list Evropske Unije, L354: 16-33
- Vally H., Misso N. L. 2012. Adverse reactions to the sulphite additives. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 5: 16–23
- Ward M. H., Kilfoy B. A., Weyer P. J., Anderson K. E., Folsom A. R., Cerhand J. R. 2010. Nitrate Intake and the Risk of Thyroid Cancer and Thyroid Disease. *Epidemiology*, 21, 3: 389–395
- Yamaguchi S., Ninomiya K. 2000. Umami and food palatability. *Journal of Nutrition*, 130: 921–926
- Yang W. H. D. M., Herbert M., Mao Y., Karsh J. 1997. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99: 757–762.

ADITIVI IN IMUNSKI ODZIV

Alojz IHAN¹

Povzetek: Aditivi so snovi, ki jih uporabljamo pri procesiranju hrane za izboljšanje organoleptičnih lastnosti in teksture hrane, konzerviranje in preprečevanje kvarjenja hrane. Aditivi so v veliko pomoč pri zagotavljanju optimalne in cenovno dostopne hrane. Vendar je uporaba aditivov, zlasti kronična in v večjih količinah, lahko povezana z zdravstvenimi težavami. V prispevku opisujemo učinke uporabe aditivov na imunske funkcije.

Ključne besede: aditivi, hrana, imunski sistem, vnetni mediatorji, diverziteta bakterij

ADDITIVES AND IMMUNE RESPONSE

Abstract: Additives are substances included in food processing to provide a smooth and consistent texture, preserve the nutrient value and reduce the spoilage of food.. Food additives are of great help in various techniques employed for food preparation and preservation. However, the effects of food additives may be harmful in the long run on constant exposure. In the article we describe effects of food additives that alterate the immune response.

Key words: additives, food, inflammatory mediators, diversity of bacteria

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Zaloška 4, Ljubljana, e-mail: alojz.ihan@mf.uni-lj.si

1 UVOD

V zadnjih letih znanstveniki v številnih študijah raziskujejo povezavo med načinom prehranjevanja in tveganjem za razvoj številnih kroničnih in avtoimunih bolezni (rak, metabolni sindrom, srčno žilne bolezni, nevrodegenerativne bolezni, sladkorna bolezen, alergije itd.) ter odkrivajo vpliv različnih sestavin hrane in načinov prehranjevanja prehranjevanja tako na razvoj kot na potek bolezni, med drugimi tudi bolezni prebavil (Heber D. 2014).

Z načinom prehranjevanja lahko vplivamo na delovanje imunskega sistema neposredno, pomemben pa je tudi posreden način, preko vpliva na sestavo črevesne sluznice in črevesne mikrobiote, ki je med najpomembnejšimi dejavniki za pravilno oblikovanje in delovanje imunskega sistema. Prehranjevalne navade in sestava hrane so osnovni dejavnik, ki je direktno in indirektno povezan z delovanjem imunskega sistema in mikrobno raznolikostjo v črevesju (Inštitut za varovanje zdravja. 2010).

Aditivi so snovi ali mešanice snovi, ki se ne uživajo kot samostojno živilo, vendar so dodani živilom med postopki predelave, obdelave, transporta oziroma pri hrambi, z namenom izboljšanja varnosti oz. kakovosti. Aditive za živila razvrščamo v posamezne skupine glede na njihovo funkcijo; med najpomembnejše skupine spadajo sladila (sorbitol, manitol, aspartam, acesulfam K), barvila (kurkumin, tartrazin, amarant, karamel), konzervansi (benzojska, sorbinska kislina, žveplov dioksid, sulfiti), antioksidanti (askorbinska kislina, mlečna kislina, citronska kislina, tokoferoli), ojačevalci okusa (glutaminat in glutaminska kislina, ionizati), emulgatorji, nosilci, sredstva za uravnavanje kislosti, sredstva za povečanje prostornine, sredstva proti strjevanju, sredstva proti penjenju, utrjevalci, encimi, potisni plini, stabilizatorji. (EFSA. 2017)

Veliko število sestavin, ki so v sodobnih, procesiranih prehranskih izdelkih, povečuje možnost za nepredvidene in nekontrolirane vplive na različne fiziološke reakcije v organizmu, med njimi so zelo pomembne imunske funkcije. Posamezne sestavine v živilih lahko postanejo tarča za napad imunskega sistema nanje, posledica je nastanek škodljivega vnetja (preobčutljivostne reakcije). Po drugi strani pa lahko posamezna sestavina živila vpliva na delovanje imunskih celic (imunomodulatorno delovanje), posledice pa so lahko bolezni, ki nastanejo zaradi spremenjenega delovanja imunskega sistema (avtoimunost, alergije, kronična vnetja, neopornost proti okužbam). Zaradi množične uporabe procesiranih živil in množične uporabe številnih aditivov v najrazličnejših kombinacijah je zato potrebno skrbno spremljati vpliv prehranskih izdelkov na zdravje ljudi. (Ihan A. 2014)

2 IMUNSKI SISTEM

Imunski sistem je razpreden po vsem telesu in ima svoja lastna obtočila – limfne žile, ki oskrbujejo vse telesne organe in tkiva razen možganov. V limfnih žilah se pretaka motna, gosta tekočina (limfa), ki vsebuje maščobne kapljice in bele krvničke.

Ob limfnih žilah so posebna mesta – bezgavke, tonzile, kostni mozeg, vranica, jetra, pljuča, črevo – kjer se lahko imunske celice zberejo, organizirajo in usmerijo na določena mesta kot del imunskega odziva. Izjemna organiziranost imunskega sistema omogoča imunski odziv na vsakem mestu, na katerem je to potrebno. (Chow A.W. 2012)

Tujke, ki jih tok mezge zanese v bezgavko, najprej zadržijo makrofagi v parakorteksu. Celicam T pomagalkam jih ponudijo v prepoznavanje. Celice T pomagalko izločajo različne hormone podobne snovi – citokine. Z njimi organizirajo druge imunske celice (predvsem limfocite B in citotoksične limfocite T) in tako sprožijo imunski odziv. Limfociti B nato začnejo tvoriti in izločati obrambne molekule – protitelesa. Protitelesa se porazdelijo po krvi in preostalih telesnih tekočinah. Če v telo ponovno pridejo tujki (bakterije ali virusi), zaradi katerih so nastala protitelesa, se protitelesa vežejo nanje in jih uničijo.

Več kot polovica imunskih celic, ki jih ima človek, je v sluznicah. Samo sluznice človeških prebavil vsebujejo toliko imunskih celic kot človeška vranica. Imunske celice sluznic so deloma organizirane v sluznične limfatične folikle deloma pa so razporejene posamično. Folikli so dobro organizirani skupki imunskih celic in prestrezajo delčke mikrobov, ki vdrejo v notranjost sluznice. Po stiku z mikrobnimi delčki se imunske celice v foliklih aktivirajo in začnejo razmnoževati. Aktivirane celice nato iz foliklov potujejo proti površini sluznic in tam prestrezajo in uničujejo mikrobov. (Ihan A. 2014)

Vdor tujkov v telo sproži različne obrambne mehanizme. Delimo jih na mehanizme prirojene (konstitucijske) odpornosti in mehanizme naučene (adaptibilne) odpornosti. Med mehanizme prirojene odpornosti spada požiranje bakterij. To delo opravljajo fagocitne celice. Značilno za mehanizme prirojene odpornosti je, da se proti tujkom (mikrobom) odzovejo takoj in v polni meri ne glede na to, ali je organizem že kdaj prej prišel v stik z enakimi tujki ali ne. Nasprotno pa mehanizmi naučene odpornosti ob prvem stiku s tujkom šele izoblikujejo imunski odziv. Zato je potreben čas – imunski odziv se pojavi z zakasnitvijo nekaj dni do nekaj tednov. Ko pa se imunski odziv vzpostavi, je dolgo časa (leta in desetletja) pripravljen za prepoznavanje enakih tujkov – to lastnost »pomnjenja« tujka imenujemo imunski spomin. Ponoven vdor enakih tujkov v telo zato izzove hitrejši (zgodnejši) in močnejši imunski odziv kot ob prvem stiku s tujkom. Pravimo, da se imunski sistem po prvem stiku z določeno vrsto bolezenskega mikroba nauči nanj odzivati. Zato ob ponovni okužbi z enakim mikrobom že v kali zatire širjenje mikrobov po telesu in tako prepreči nastanek bolezni. Ta pojav izkoriščamo zlasti pri cepljenju. Cepivo vsebuje delčke mikroba in nauči imunske celice, da se znajo odzivati proti določenemu mikrobom. Tako je ob okužbi s pravim mikrobom imunski sistem pripravljen na odziv in lahko prepreči nastanek bolezni. (Ihan A. 2014)

2.1 VNETJE

Vdor mikrobov skozi kožo ali sluznice v notranjost telesa v okuženem tkivu povzroči reakcijo, ki jo imenujemo vnetje. Vnetje je stereotipen, vnaprej pripravljen odziv tkiva na vsako poškodbo, pri kateri gre za uničenje (nekrozo) celic ali pojav tujkov v tkivu. Ne glede na vzrok poškodbe (mikrobi, fizična poškodba ali poškodba s kemičnimi sredstvi) sledi zaporedje reakcij tkiva. Na mestu poškodbe se močno okrepi obrambna zmožnost tkiva: poveča se prekrvavljenost, vneto mesto pord in oteče. V vnetišču se začnejo kopičiti obrambne celice in izločati snovi (mediatorje), ki med drugim tudi dražijo živčne končiče. Med številnimi snovmi ali mediatorji, ki se tvorijo v vnetem tkivu, je zelo pomembna skupina krvnih beljakovin, ki jo imenujemo komplementni sistem. Beljakovine komplementnega sistema ob aktivaciji zelo učinkovito uničujejo mikrobov, vendar lahko hkrati tudi okvarjajo tkivo. Pomemben mediator vnetja je histamin. Povzroča razširitev žil in poveča prepustnost žilja. Histamin se sprošča iz posebnih celic – mastocitov, ki so zlasti v koži in sluznicah. Zaradi sproščanja histamina iz mastocitov nastanejo alergije. (Ihan A. 2011)

Vsak odziv v obliki vnetja poteka v sodelovanju raznovrstnih in številnih imunskih celic (nevtrofilcev, makrofagov, celic T pomagalk, citotoksičnih limfocitov T, limfocitov B, celic NK). Na mestu vdora mikrobov v telo se morajo ustrezne imunske celice zbrati in z medsebojnim signaliziranjem koordinirati svoje dejavnosti v primerno organiziran imunski odziv. Za sporazumevanje uporabljajo imunske celice signalne molekule – citokine (citokin dobesedno pomeni »celični premikalec«). Z izločanjem citokinov posamezna imunska celica vpliva na druge imunske celice, ki so navadno v njeni neposredni sosesčini. Citokini, ki imajo vpliv na imunske reakcije, je veliko vrst. Najbolj znani so interferoni (sprva so bili odkriti kot pomembni mediatorji vnetja pri virusnih okužbah), TNF (Tumor Necrosis Factor, znan predvsem zaradi pomembne vloge pri nastanku septičnega šoka) in interleukini. Interleukini so beljakovine, ki jih izločajo limfociti in z njimi vplivajo na druge limfocite. Med interleukini je najbolj znan interleukin 2, ki je osrednja molekula, s katero celice T pomagalk dajo signale drugim limfocitom (limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T, celic NK). (Ihan A. 2011)

2.2 IMUNSKE CELICE

Fagocitne celice morajo mikrobo (npr. bakterije) najprej prepoznati kot tujke. Nato jih požrejo (fagocitirajo), v celicah ubijejo in razgradijo. Fagocitne celice razlikujejo med »lastnim« in »tujim« na osnovi nekaterih fizikalnih lastnosti površin delcev, s katerimi pridejo v stik. Bakterijske površine se večinoma dovolj razlikujejo od površin telesnih celic, zato se ob stiku fagocitnih celic z bakterijami sproži fagocitoza. Med fagocitnimi celicami, pomembnimi za odstranjevanje tujkov, je treba omeniti zlasti nevtrofilce in mononuklearne fagocite. (Ihan A. 2011)

Nevtrofilci požirajo tujke in jih znotraj celice s strupenimi snovmi uničijo. Ker so nevtrofilci najpomembnejše obrambne celice za odstranjevanje tujkov, pomanjkanje le-teh v krvi (tj. nevtropenija) pomeni veliko nevarnost – možen je nastanek smrtno nevarnih okužb. Monociti in makrofagi prepoznavajo in požirajo tujke ter jih tako odstranjujejo iz tkiv. Ob tem izločajo vnetne mediatorje, ki sprožijo vnetno reakcijo. Monociti in makrofagi tudi ponujajo delčke požrtih mikrobov (te delčke imenujemo antigeni) v prepoznavo limfocitov T – celicam pomagalkam. Če celica T-pomagalka prepozna delček mikroba (antigen), se aktivira in sproži specifični imunski odziv proti mikrobu. (Ihan A. 2011)

Specifični imunski odziv temelji na zmožnosti imunskih celic s pomočjo beljakovinskih molekul – receptorjev – razlikujejo med »lastnim« in »tujim«. Kadar prepoznajo "tuje", sprožijo napad, s katerim skušajo tujek uničiti in ga odstraniti iz telesa. Na ta način imunske celice vzdržujejo individualnost in integriteto organizma. Lastno (self) opredeljujemo molekule, ki so integralni del organizma in so kodirane v njegovem genskem zapisu (tj. genomu). Tuje (non-self) opredeljujemo kot vse druge molekule. Specifične imunske celice – limfociti – imajo na svojih površinah receptorje, ki specifično prepoznavajo tuje molekule – antigene. Prepoznavi sledi imunski odziv, katerega namen je odstraniti antigene iz telesa. Zaradi raznolikosti molekul v okolju mora biti imunski sistem sposoben specifično prepoznavati milijone različnih antigenov in se nanje ustrezno odzivati.

Limfociti so celice, ki omogočajo specifični imunski odziv. Limfociti imajo na površini receptorje za tujke – antigene, tj. antigenske receptorje. Protitelesa (Imunoglobulini – Ig) so antigenski receptorji limfocitov B, T-celični receptorji (TCR) pa so antigenski receptorji limfocitov T. Vsak limfocit ima samo eno vrsto antigenskih receptorjev na svoji površini, zato lahko razpozna samo eno vrsto tujka. Raznolikost molekul v okolju

narekuje obstoj številnih limfocitov. Ti se razlikujejo glede na specifičnost antigenskih receptorjev.

Protitelesa IgG so najpogostejša protitelesa v normalnem človeškem serumu, saj jih je okoli 70 %. Lahko prehajajo skozi placento, zato materina protitelesa IgG in IgM se razporedijo v zunajceličnih telesnih tekočinah (v krvi, medceličnini, limfi). S svojimi vezišči se povežejo s tujki (antigeni). To na različne načine povzroči odstranitev tujkov iz telesa. Protitelesa IgM in IgG so zlasti pomembna za odpornost proti bakterijskim in virusnim okužbam.

Protitelesa IgA so poglavitna protitelesa, ki ščitijo sluznice pred vdorom mikrobov. Protitelesa IgA se vežejo na tuje molekule, ki so prodrle v sluznico, in jih prenašajo nazaj na površino sluznic. Na površini sluznic pa vezava protiteles IgA na tujke oteži njihov vdor v sluznice. Pomembna lastnost protiteles IgA je v tem, da na sluznicah ne povzročijo vnetja. V nasprotnem primeru bi bile sluznice nenehno vnete zaradi številnih mikrobov, ki prebivajo na njih. Ljudje, ki zaradi dedne motnje ne izdelujejo dovolj protiteles IgA, pogosto obolevajo zlasti za okužbami dihal (prehladi, pljučnice) in črevesnimi okužbami (driske).

Protitelesa razreda IgE nastajajo predvsem v sluznicah črevesa in dihal. Tam se vežejo na celice, imenovane mastociti. Vezava tujka na protitelesa IgE zato sproži izločanje vnetnih mediatorjev iz mastocitov. Vnetje, ki ga sprožijo mastociti, pa je zelo učinkovito proti parazitom. Zato so protitelesa IgE zlasti učinkovita za odpornost proti okužbam s paraziti. V razvitem svetu, kjer je zelo malo parazitskih obolenj, pa so protitelesa IgE predvsem pomembna zato, ker sodelujejo pri nastanku bolezni, ki jih imenujemo alergije. (Ihan A. 2011)

3 VPLIV ADITIVOV NA IMUNSKI SISTEM

Potencialne interakcije prehranskih aditivov in imunskega sistema so lahko dvojne – aditiv je kot tujek lahko tarča imunološke zavrnitvene reakcije s posledičnim (preobčutljivostnim) vnetjem. V tem primeru je aditiv v vlogi alergena, proti kateremu nastane alergična reakcija. Po drugi strani pa je aditiv lahko v vlogi imunomodulatorne molekule, ki spreminja odzive imunskih celic in imunskih reakcij. (Aggarwal B. 2014)

Med alergijami na aditive so gotovo najboljše dokumentirane take, ki nastanejo zaradi protitelesnega odziva IgE, saj jih je s testi najlažje dokazati. Največkrat pri tem ne gre za osnovno molekulsko učinkovino aditiva, pač pa za alergijo na beljakovinske ostanke surovin, iz katerih so pripravljene aditivi. Primer je emulgator lecitin (E322), ki je ekstrakt fosfolipidov, pridobljen iz različnih surovin (soja, jajca, oljna repica, sončnična semena). Klasična alergija z nastankom protiteles IgE ne nastane proti osnovni, fosfolipidni molekuli aditiva, pač pa proti ostankom proteinov (sojinih, sončničnih, jajčnih) v pripravku prehranskega aditiva. Po drugi strani pa so zelo redke objave o nastanku protiteles IgE in klasični alergiji proti osnovnim molekulam aditivov. (Cardinale F. 2014)

Razmeroma veliko objav v znanstveni literature pa opisuje vpliv aditivov na modulacijo imunskih odzivov, kar je tudi razumljivo glede na to, da so aditivi večinoma manjše molekule, pri katerih pričakujemo bolj učinkovanje na celične receptore kot pa antigenske lastnosti za nastanek protiteles. Pri tem lahko aditiv učinkuje neposredno na imunske celice kot imunomodulator, lahko pa aditiv vpliva na druge fiziološke lastnosti

(naprimer spreminja prepustnost sluznic), ki so pomembne pri poteku imunskega odzivanja. V zvezi s tem je znan primer konzervansov sulfitov (E220-E228), ki se široko uporabljajo za ohranjanje različnih vrst hrane (vino, pivo, suho sadje, bela zelenjava, raki, školjke). Razmeroma dobro je dokumentirano, da lahko sulfiti izzovejo in preobčutljivostne reakcije (težko dihanje, kožni izpuščaji) zlasti pri nekaterih astmatikih, vendar večinoma ne gre za dokazljivo alergijsko reakcijo proti sulfitom, pač pa za vpliv metabolitov na sluznico. Na dihalno sluznico naprimer vpliva žveplov dioksid, ki se sprošča iz sulfitov. Pri nekaterih ljudeh lahko težave po zaužitju sulfitov razložimo tudi z encimskim defektom (intolerance zaradi pomanjkanja sulfinitne oksidaze). Nekaj publikacij pa navada tudi možen IgE mehanizem pri odzivanju na sulfide. Sulfiti v živalskih eksperimentih vplivajo na zmanjšano sproščanje leptina med vnetjem, posredovanim z IL-6. (Muraro A. 2014)

Natrijev benzoat (E211), sol benzojske kisline, se široko uporablja kot konzervans v hrani in kozmetiki zaradi probimikrobnih lastnosti (mlečni produkti, jagodičevje, slaščice, sladke pijače). V živalskih poskusih ima benzoat zaviralni učinek na NF-kappa B aktivacijo, ki je osrednji sprožitelj vnetja v celicah naravne odpornosti. Zmanjšuje aktivacijo celic Tpomagalk, celic Th1 in obenem povečuje prehod celic Th v regulatorne limfocite (Treg). Vpliva na zmanjšanje oksidativne celične presnove, v povezavi s tem tudi zmanjša mikrobicidno zmožnost imunskih celic. Zaradi protivnetnega učinka se raziskuje tudi njegova potencialna uporaba pri kroničnih vnetnih in avtoimunskih boleznih, po drugi strani pa tak imunomodulatorni učinek pomeni tudi potencialno tveganje za neželena dolgoročne učinke (zmanjšano odpornost, rakaste bolezni). Podobne protivnetne učinke imata tudi propanojska kislina (E280) in barvilo kurkumin. V kliničnih študijah so benzoate pogosto povezovali s pojavljanjem kronične urtikarije, atopijskega dermatitis in rinitisa, vendar prepričljivih dokazov o vpletenosti benzoate v našete bolezni ni. (Komisija za Evropsko farmakopejo. 2014)

Kurkumin se uporablja kot prehransko barvilo in je rumen pigment, po sestavi diferuloilmetan. Dognano je, da kurkumin kontrolira mnoge procese v protivnetnem odzivu, ki so povezani z debelostjo in inzulinsko rezistenco. Zaviral naj bi ekspresijo TNF- α (provetnetni citokin) in a tem sistemsko vnetje v različnih tkivih, aktivacijo NF-kB (proteinski kompleks, ki ima bistveno vlogo pri aktivaciji imunskega odgovora) in v povezavi s tem inhibiral še aktivacijo IKK (encimski kompleks, ki sodeluje pri širjenju celičnega odziva na vnetje). S tem pripelje do inhibicije ekspresije inflamatornih encimov in drugih faktorjev. Upočasnili naj bi tudi mnoge adipocitokine, vključno z kemokini (MCP-1, MCP-4) in interleukini (IL-1, IL-6 in IL-8). Poročali so tudi, da se kurkumin lahko obnaša kot zdravilo proti diabetesu, s tem da aktivira PPAR-gama v jetrnih zvezdastih celicah. Zmanjševal naj bi aktivnost c-Jun NH2 terminal kinaze in inhibiral pot Wnt/beta-catenina, ki je povezana z debelostjo. Poleg teh in še mnogih drugih aktivnosti, naj bi kurkumin tudi povečal dejavnost adiponektina, ki negativno vpliva na pojav debelosti, saj pomaga pri regulaciji glukoze v krvi in odzivnosti na inzulin. Vse zgoraj našete aktivnosti so bile ugotovljene na živalih. (Muraro A. 2014)

Cinamaldehyd je ena iz med aktivnih komponent cimeta in predstavlja 90% eteričnega olja. V poskusih na živalih v večjih odmerkih zavira aktivacijo NF.kappaB, tvorbo provetnetnih citokinov in oksidativno citotoksičnost. Zmanjša se zmožnost razmnoževanja limfocitov T, pri njihovi aktivaciji se poveča njihova apoptotično odmiranje. Znana je tudi anti-diabetična aktivnost cimeta, ki naj bi moduliral stopnje različnih biomarkerjev povezanih z inzulinsko rezistenco in nagnjenostjo k debelosti. Jemanje cimeta v študijah kaže vpliv na znižano serumsko koncentracijo HbA1C pri diabetesu tipa 2. Cinamaldehyd aktivira PPAR γ in α in s tem izboljša inzulinsko rezistenco in zniža nivo

glukoze na tešče, FFA, LDL holesterola in nivo aspartam aminotransferaze pri debelosti povzročeni z visoko kalorično dieto. (Cardinale F, 2014)

Natrijev nitrit (E250) se v živilski industriji uporablja kot konzervans in barvilo v suhomesnih izdelkih (svežih, kuhanih), pršutih (sveži, kuhani), delno konzerviranih in ne steriliziranih izdelkih (mortadela), v konzervah steriliziranih, prekajenem mesu, v žitu, ribah. V Evropski uniji se lahko uporablja samo v mešanici s soljo, ki lahko vsebuje največ 0,6% natrijevega nitrita. V poskusnih živalih natrijev nitrit v večjih odmerkih povzroča nevtrocitozo, zavira dejavnost celic NK proti tumorskim celicam in povzroča provnetne učinke na makrofagih – posledično se v tkivih tvori povečana količina kisikovih radikalov, vnetnih citokinov, posledica je povečana vnetna okvara tkiv. (Vally H. 2014)

Aspartam je sladilo s količinsko omejenim dnevnim odmerkom 40 - 50 mg/kg. Pri kroničnem uživanju večjih količin aspartame so na poskusnih živalih izmerili povečano celično tvorbo hsp70, za katerega je značilno, da se v imunskih celicah tvori pri oksidativnih poškodbah.

Tartrazin je azo barvilo limonaste barve (E102). Obstajajo poročila, da vpliva na večjo pogostnost alergij pri gensko nagnjenih ljudeh.

Mononatrijev glutaminat (natrijev glutamat) je prehrambeni aditiv (E 621), ki se uporablja kot ojačevalec okusa, glutaminska kislina kot sestavni del beljakovin namreč daje aromatični mesni okus. Za prehransko industrijo je izoliranje te snovi zanimivo, saj lahko z njo prihranijo (mesne) surovine in prikrijejo manjkajočo polnost okusa. Zdravstvena problematičnost glutamate kot prehranskega dodatka je v prvi vrsti na nivoju spremenjenega vedenja, oz. pretirane "lakote" po hrani, ki vzbuja občutek ugodja zaradi adiktivnega vpliva aditiva na možgane. V poskusih z večjimi odmerki glutamata na živalih so poleg poškodb živčevja opazili tudi okvaro delovanja nevtrofilcev in posledično neopornost proti okužbam. (Cardinale F. 2014)

Emulgatorji omogočajo, da se v živilih ohranijo homogene zmesi, ki se sicer ne mešajo. Emulgatorji se uporabljajo v številnih živilskih izdelkih, povsod pa imajo funkcijo izboljšanja in/ali ohranjanja primerne strukture (kruh, čokolada, sladoled, margarina, predelano meso). V zadnjih letih je usmerjena velika pozornost raziskovalcev na vpliv emulgatorjev na delovanje črevesne mikrobiote. Emulgatorji zaradi svojega delovanja spreminjajo sestavo mikrobiote, še bolj pomemben je verjetno njihov vpliv na tanjšanje sluzne plasti v črevesju. Posledica je lahko preveliko približanje črevesne mikrobiote epitelijskim celicam, in posledično sprožanje kroničnega črevesnega vnetja, oz kronične vnetne črevesne bolezni pri genetsko dojemljivih ljudeh. (Muraro A. 2014)

4 ZAKLJUČEK

Način, s katerim se ocenjuje varnost aditivov, je določen preko Codex Alimentarius-a, ki je mednarodna organizacija za standarde na področju hrane in katerega članica je tudi Slovenija. Metodologija ocene varnosti sloni na toksikoloških študijah na živalih, rezultati pa se za ljudi interpretirajo z uporabo varnostnega faktorja 100 - ocenjeni sprejemljivi dnevni vnos (acceptable daily intake - ADI) aditivov za ljudi je 100 krat nižji od mejnega vnosa, ki pri živalih še ne povzroči škodljivega učinka. Imunološki fenomeni pri odzivu na tuje snovi pa pogosto ne sledijo toksikološkim pričakovanjem – pojavijo se pri majhnem delu populacije, vendar tam z razmeroma hudo patologijo,

učinek pa neredko ni sorazmeren odmerku škodljive snovi. Zato klasične toksikološke študije ne predvidijo imunoloških posledic vnosa določenih snovi. Zlasti alergijske bolezni in kronična črevesna vnetja značilno potekajo kot statistično nepričakovan, a po drugi strani intenziven patološki proces, ki ga z določeno snovjo pri večini ljudi ni mogoče izzvati, pri prizadetih bolnikih pa ista snov ponovljivo povzroča poslabšanje bolezni. Zato je smiselno posebej označevati navzočnost posameznih aditivov v hrani, če se začnejo pojavljati raziskovalna poročila o njihovem škodljivem delovanju na določene skupine ljudi. Primer so sulfiti, ki jih mora proizvajalec posebej označiti kot alergene snovi, čeprav alergija nanje ni povsem jasno dokazana. Potencialno alergogeni so tartrazin, karmin, natrijev glutaminat in aspartam.

5 VIRI

- Aggarwal B. B., Heber D. Spices and Dietary Supplements with Anti-Inflammatory Activity. V: Aggarwal B. B., Heber D., ur. Immunonutrition: Interactions of Diet, Genetics, and Inflammation. Florida: CRC Press; 2014. p. 317-329
- EFSA (The European Food Safety Authority) <http://www.efsa.europa.eu>
- Heber D. 2014. Immunonutrition: Interactions of diet, genetics and inflammation. B.B. Aggarwal, D. Heber (eds.). Phytochemicals and immune function: 67-84
- Ihan A. Telesna dejavnost in imunski sistem. Zdravniški vestnik 2014;83:158-168
- Ihan A. Celice imunskega sistema in poglavni geni, udeleženi v imunskem odzivu. V: Jezernik K. Veranič P. Sterle M. Celična biologija : učbenik za študente Medicinske fakultete. 1. izd. Ljubljana: DZS, 2012:195-216
- Ihan A. Dodatek - cepiva in imunost. V: Kraigher A. Ihan A. Avčin T. Cepljenje in cepiva - dobre prakse varnega cepljenja : univerzitetni učbenik za študente medicinske in zdravstvene fakultete. Ljubljana: Sekcija za preventivno medicino SZD: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD: Inštitut za varovanje zdravja RS, 2011: 130-173
- Inštitut za varovanje zdravja. 2010. Moje okolje, Priporočila potrošnikom, Kaj so barve/barvila za živila? <http://www.ivz.si>
- Komisija za Evropsko farmakopejo, Formularium Slovenicum. Števíla E. Formularium Slovenicum 30. 2011:497-514
- Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K et. al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. Allergy. 2014, 69:1008–25
- Vally H, Misso NL. Adverse reactions to the sulphite additives. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2012;5:16–23
- Žontar TP, Peterman M. 2010. Aditivi v živilih. Ljubljana: Mednarodni inštitut za potrošniške raziskave.

ADITIVI IN ČREVESNA MIKROBIOTA

Primož TREVEN¹ in Irena ROGELJ²

Povzetek: Evolucija in spremembe življenjskega sloga, povezane s kmetijsko in industrijsko revolucijo, so prispevale k daljši življenjski dobi človeka, hkrati pa tudi k močno spremenjenim ekološkim razmeram in bolezenskim vzorcem populacije. Zanimivo je, da povečana incidenca mnogih sodobnih bolezni, od vnetnih črevesnih bolezni do sistemskih bolezni, kot je metabolični sindrom, sovпада s spremembami prehranskih navad v preteklosti, le-te pa s spremembami strukture in funkcionalnosti človeškega črevesnega mikrobioma. Raziskave kažejo, da kalorično gosta prehrana, z veliko sladkorja in živalskimi maščobami, značilna za industrializirane države, zmanjšuje pestrost in funkcionalnost mikrobiote in s tem njen adaptivni ter zaščitni potencial. Kljub hitremu napredku znanosti je naše poznavanje interakcij humanega metagenoma (humani genom in mikrobiom) in prehrane še vedno zelo skromno, z boljšim poznavanjem vpliva makrohranil in skoraj nepoznavanjem vpliva drugih sestavin prehrane, med katere sodijo tudi aditivi. Klinične študije, ki bi proučevale vpliv aditivov na humano črevesno mikrobioto so redke, večina podatkov izhaja iz *in vitro* študij in študij na živalih, rezultati pa so si pogosto nasprotujoči. V prispevku so podrobneje opisane raziskave o vplivu sladil in emulgatorjev, ki so zaradi široke uporabe in opaženih negativnih učinkov na zdravje, v zadnjem času vse bolj vroča tema raziskav.

Ključne besede: črevesna mikrobiota, mikrobiom, prehrana, aditivi, sladila, emulgatorji, karagenan

FOOD ADDITIVES AND GUT MICROBIOTA

Abstract: Evolution and lifestyle changes associated with agricultural and industrial revolution, have contributed to an increased life expectancy, and also to strongly modified ecological conditions and disease patterns of the population. Interestingly, an increased incidence of many modern diseases, from inflammatory bowel disease to systemic diseases such as metabolic syndrome, coincides with changes in dietary habits in the past, which also correlate with changes in structure and functionality of human intestinal microbiome. Researches show that calorie-dense food with high sugar and animal fats, typical of industrialized countries, reduces the diversity and functionality of the gut microbiota and thus its adaptive and protective potential. Despite the rapid progress of science, our knowledge of the interactions between the human metagenome (human genome and microbiome) and the food is still very poor, with better knowledge of the impact of macronutrients, and almost ignorance of the influence of other components of the diet, such as food additives. Clinical studies that investigated the effect of food additives on the human intestinal microbiota are rare, most of the data results from *in vitro* and animal studies, and the results are often contradictory. In this article, studies regarding the impact of sweeteners and emulsifiers are described in detail, since this is hot topic due to the widespread usage in food and observed negative effects on human health.

Key words: intestinal microbiota, microbiome, nutrition, food additives, sweeteners, emulsifiers, carrageenan

¹ dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Domžale, e-mail: Primoz.Treven@bf.uni-lj.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Domžale, e-mail: Irena.Rogelj@bf.uni-lj.si

1 PREHRANA – ČREVESNI MIKROBIOM - ZDRAVJE

Pomemben vpliv prehrane na zdravje človeka je nesporen, šele novejša raziskava pa odkrivajo, kako velik prispevek ima pri tem črevesni mikrobiom. Humana mikrobiota se razvija skupno s človekom in se prilagaja na njegovo genetsko ozadje in prehrano. Tako se vzpostavlja homeostaza v metabolizmu hranil, mukozni imunosti in energetskem statusu (pridobivanje/izkoriščanje in trošenje energije). Na skupni evolucijski poti nudi mikrobiom, z oblikovanjem strukturnega in funkcionalnega ekosistema, ki se spreminja in prilagaja, gostitelju nepogrešljivo podporo v vseh življenjskih obdobjih (Quercia in sod., 2014). Simbiotski odnos med človekom in njegovo mikrobioto je tako pomemben za njegovo zdravje, da bi po mnenju nekaterih znanstvenikov morali mikrobiom obravnavati kot del humanega genoma (Del Chierico in sod., 2012; Morgan in sod., 2013).

Črevesni mikrobiom je kompleksen in dinamičen sistem, ki se lahko hitro odzove na različne okoljske ali endogene dejavnike, kot so prehrana, starost, genetika in fiziološko stanje gostitelja. Pestrost mikrobiote je na ravni debel relativno majhna, saj več kot 90 % filogenetskih kategorij, ki jih najdemo v prebavnem traktu, pripada debloma firmikut in bakteroidet, izjemno pa se povečuje na nižjih taksonomskih ravneh, predvsem na ravni vrst in sevov bakterij (Power in sod., 2014). Kljub temu, da naj bi humano črevesno mikrobioto sestavljalo kar 1100 bakterijskih vrst, naj bi po nekaterih ocenah samo 50 različnih vrst sestavljalo osnovno skupino bakterijskih vrst, ki jih lahko najdemo pri vsaj 50 % ljudi (Qin in sod., 2010). Vsak posameznik naj bi tako imel svoj karakteristični mikrobní vzorec, ki ga nekateri primerjajo kar s prstnim odtisom (Alonso in Guarner, 2013).

1.1 EVOLUCIJA IN ČREVESNA MIKROBIOTA

Evolucija in spremembe življenjskega sloga, povezane s kmetijsko in industrijsko revolucijo, so prispevale k znatnemu napredku medicine in daljši življenjski dobi človeka, hkrati pa tudi k močno spremenjenim ekološkim razmeram in bolezenskim vzorcem populacije. Študije, ki primerjajo črevesni mikrobiom visoko industrializiranih civilizacij in populacij s podeželskim načinom življenja, podobnim paleolitskemu, kažejo, da imajo slednje bolj robustno, odporno in raznoliko mikrobioto, bogato s predstavniki rodov *Prevotella* in *Treponema* (sposobne razgradnje kislina), prilagojeno pridobivanju kratkoverižnih maščobnih kislin iz rastlinsko osnovane prehrane (Schnorr in sod., 2016; Gottlieb in sod., 2017).

Primerjava fekalne mikrobiote evropskih otrok ("zahodnjaška" prehrana) in otrok iz Burkine Faso (pretežno rastlinska prehrana) je pokazala manjšo zastopanost bakterij iz družine firmikut in večjo zastopanost bakteroidet (predvsem vrst rodov *Prevotella* in *Xylanibacter*, sposobnih razgradnje celuloze in ksilana) pri afriških otrocih in večji delež predstavnikov enterobakterij pri evropskih otrocih (De Filippo in sod., 2010). Avtorji menijo, da energijsko gosta prehrana z veliko sladkorja in živalskimi maščobami, značilna za industrializirane države, zmanjšuje pestrost in funkcionalnost mikrobiote in s tem njen adaptivni ter zaščitni potencial.

Študije so pokazale, da lahko izguba pestrosti črevesne mikrobiote in porast patogene mikrobiote vodita v porušeno ravnotežje med mikrobioto in gostiteljem (disbiozo), kar prispeva k razvoju vnetnih procesov, negativno vpliva na metabolizem glukoze, inzulinsko rezistenco in debelost, hkrati pa povečuje tveganje za razvoj metabolnega

sindroma, sladkorne bolezni tipa II, vnetnih črevesnih bolezni in raka (Halmos in Suba, 2016; Bishof, 2016).

Vprašanje, na katerega želijo odgovoriti številni raziskovalci, je, kateri dejavniki so prispevali k manjši pestrosti črevesne mikrobiote sodobnega prebivalstva razvitega sveta v primerjavi s populacijami, ki živijo »na tradicionalni način«, podobno kot so živeli predniki v paleolitiku (lovci-nabiralci) ali kasneje v neolitiku (začetki kmetovanja, poljedelci). Raziskave kažejo, da so ključni dejavnik oblikovanja pestrega mikrobnege ekosistema ogljikovi hidrati prehranskih vlaknin, dostopni le mikrobioti (De Filippo in sod., 2010; Schnorr in sod., 2014; Sonnenburg in Sonnenburg, 2014; Quercia in sod., 2014). Prav teh pa je v sodobni prehrani, bogati z maščobo in enostavnimi ogljikovimi hidrati, zelo malo. Sonnenburg in sod. (2014) so z eksperimentom na miših, koloniziranih s humano mikrobioto, pokazali, da krmljenje miši z nizko vsebnostjo vlaknin več generacij povzroči postopno izgubljanje mikrobne pestrosti, ki se s ponovno uvedbo višjih koncentracij vlaknin ne povrne več v prvotno stanje. Da bi povrnili mikrobioto v prvotno stanje, je bilo potrebno dodajanje manjkajočih taksonov v kombinaciji s prehranskimi vlakninami. Oblika takšnih prehranskih intervencij je dopolnjevanje prehrane s probiotiki in prebiotiki, vendar je zaradi omejenih možnosti, pa tudi znanja, še daleč od optimalne. Kljub hitremu in izjemnemu napredku znanosti je naše poznavanje interakcij humanega metagenoma (humani genom in mikrobiom) in prehrane še vedno zelo skromno, z boljšim poznavanjem vpliva makrohranil in skoraj nepoznavanjem vpliva drugih sestavin prehrane, med katere sodijo tudi aditivi, ki se od sredine 20. stoletja dodajajo v skoraj vsa predelana živila z namenom izboljšanja stabilnosti, obstojnosti, teksture, okusa, barve, ... in predstavljajo pomembno spremembo v človeški prehrani (Roca-Saavedra in sod., 2016).

2 VPLIV ADITIVOV NA ČREVESNO MIKROBIOTO

Humane študije, ki bi proučevale vpliv aditivov na humano črevesno mikrobioto so zelo redke, saj so z njimi povezane številne težave od oblikovanja kohort zdravih prostovoljcev, ki še ne bi bili izpostavljeni aditivom, do težav pri izločanju/upoštevanju vpliva motečih dejavnikov, kot so genetika, življenjski slog in prehranjevalne navade. Zato se pri študijah vpliva aditivov na črevesni mikrobiom raziskovalci pogosteje poslužujejo živalskih modelov (Roca-Saavedra in sod., 2016). Kljub temu lahko pričakujemo na tem področju vse več raziskav, saj novejša jasno kažejo povezavo med uživanjem aditivov, spremenjenim črevesnim mikrobiomom in zdravjem. V nadaljevanju bomo podrobneje opisali raziskave o vplivu sladil in emulgatorjev na črevesno mikrobioto, saj so do sedaj raziskovalci posvetili največ pozornosti prav tem aditivom.

2.1 SLADILA

Sladila spadajo med najbolj razširjene in priljubljene aditive. Popularna so postala zaradi relativno nizke cene, nizke kalorične vrednosti in zdravju koristnih učinkov, saj naj bi prispevala k zmanjševanju telesne mase in ravni krvnega sladkorja. Število živil z dodanimi sladili zato neprestano raste, saj jih priporočajo v primeru hujšanja, osebam z glukozno intoleranco in sladkorno boleznijo tipa 2. Vendar pa so rezultati novih študij precej kontroverzni, saj nekatere med njimi poročajo o ravno obratnih učinkih sladil. Dolgoročno uživanje sladil namreč povezujejo s povečanim pridobivanjem telesne mase in večjim tveganjem za srčno-žilna obolenja, moteno toleranco za glukozo ter diabetes tipa 2 (Suez in sod., 2015).

Raziskave nakazujejo tri možne mehanizme, s katerimi lahko razložimo nepričakovane presnovne motnje: 1) sladila v črevesu reagirajo z receptorji sladkega okusa, ki sodelujejo pri regulaciji absorpcije glukoze in spodbujajo izločanje insulina preko inkretinskih poti (Brown in Rother, 2012; Meyer-Gerspach in sod., 2016); 2) nizkokalorična sladila strukturno ali funkcijsko spremenijo črevesno mikrobioto, kar povzroči vnetne procese, povezane s presnovnimi motnjami, saj je znano, da vnetje nizke stopnje prispeva k razvoju inzulinske rezistence (Nettleton in sod., 2016); 3) sladila modulirajo možganske odzive preko osi črevo-možgani (Swithers, 2013).

Ker je večina sladil neprebavljivih za naše (humane) encime in prispejo v črevo nespremenjeni, se zdi hipoteza, da učinkujejo na črevesno mikrobioto in so nepričakovana opažanja negativnih zdravstvenih učinkov posledica spremenjene sestave in delovanja mikrobioma, smiselna. Prvo poročilo o vplivu sladil na mikrobiom sega že v leto 1980, ko sta Anderson in Kirkland (1980) opazila, da saharin spremeni razmerje med aerobi in anaerobi v črevesni mikrobioti podgan. Razvoj novih metod za proučevanje mikrobioma je omogočilo natančnejši vpogled v interakcije med hranili in mikrobi.

Tako so Suez in sod. (2014) na mišjem modelu dokazali, da kronično uživanje sladil stopnjuje glukozno intoleranco. Najprej so 10-tednov starim C57Bl/6 mišim v vodo za pitje dodajali komercialne pripravke saharina, sukraloze ali aspartama. Ker komercialni pripravki sladil vsebujejo 5 % sladil in 95 % glukoze, so kontrolne miši pile ali samo vodo ali pa vodo z dodatkom samo glukoze ali pa saharoze. Po 11-ih tednih so imele miši, ki so pile vodo, vodo z glukozo ali saharozo, enako krivuljo glukozne tolerance, medtem ko so vse miši, ki so uživale sladila, razvile očitno intoleranco za glukozo. Ker so želeli potrditi, da je v spremenjeno fiziologijo in metabolizem vpletena mikrobiota, so miši, ki so uživale komercialne pripravke ali čista sladila tretirali s širokospektralnimi antibiotiki proti gramsko negativnim (ciprofloksacin in metronidazol) ali pa gramsko pozitivnim bakterijam (vankomicin). Po 4-ih tednih antibiotičnega tretmaja razlik v toleranci za glukozo niso več opazili. Tako so potrdili povezavo med mikrobioto, spremenjeno zaradi uživanja sladil in razvojem glukozne intolerance. Rezultate so potrdili še s transplantacijo blata miši, ki so uživale saharin ali glukozo (kontrola), normalno krmljenim, sterilnim mišim ter analizo fekalne mikrobiote vseh skupin miši. Miši, ki so prejele mikrobioto s saharinom krmljenih miši, so imele v primerjavi s kontrolnimi mišmi slabšo toleranco za glukozo.

Največjo spremembo sestave mikrobiote so opazili pri miših, ki so uživale saharin. Analiza metagenoma je pokazala pri miših, ki so uživale saharin, bolj izražene poti, značilne za fermentacijo glikanov do različnih metabolitov, vključno s kratkoverižnimi maščobnimi kislinami, posledica česar je učinkovitejše pridobivanje energije. Povezava obeh analiz (fekalne mikrobiote in metagenoma) je pokazala, da je uživanje saharina povzročila funkcionalno spremembo mikrobiote s povečano sposobnostjo razgradnje glikana, h kateri je prispeval porast vrst iz rodu *Bacteroides*.

V nadaljevanju so Suez in sod. (2014) proučevali še povezavo med dolgotrajnim uživanjem sladil (podatke so pridobili iz vprašalnikov o pogostosti uživanja živil) in različnimi kliničnimi parametri pri 381 ne-diabetičnih posameznikih (44 % žensk in 56 % moških), starih $43,3 \pm 13,2$ let. Našli so značilno pozitivno povezavo med uživanjem sladil in različnimi kliničnimi parametri, značilnimi za metabolični sindrom, vključno s povečano telesno maso, višjimi vrednostmi glukoze v krvi na tešče, glikoziliranim hemoglobinom in moteno toleranco za glukozo. Na koncu so želeli tudi ugotoviti, ali gre med uživanjem sladil in uravnavanjem glukoze v krvi za vzročni odnos. Študijo so

opravili na 7 prostovoljcih, ki normalno niso uživali sladil, v študiji pa so 7 dni uživali maksimalni sprejemljiv dnevni vnos (ang. Adequate Daily Intake (ADI)) komercialnega saharina (5 mg/kg telesne teže), enakomerno porazdeljen v tri dnevne odmerke. Kontinuirano so merili nivo glukoze v krvi, dnevno opravljali test glukozne tolerance in sedmi dan naredili analizo mikrobioma. Celo po tako kratkem obdobju so imeli 4 od 7 udeležencev 5.-7. dan uživanja saharina signifikantno slabši glikemični odziv v primerjavi z njihovim izhodiščnim (»odzivni na saharin«). Pri nobenem od treh prostovoljcev, ki se na uživanje saharina »niso odzvali«, niso zabeležili izboljšane glikemičnega odziva, zanimivo pa je tudi, da za razliko od na saharin-odzivnih prostovoljcev, pri katerih so ugotovili značilno spremenjeno sestavo mikrobioma, pri ne-odzivnih prostovoljcih tega niso opazili.

Da se posamezniki po glikemičnem odzivu na različna živila zelo razlikujejo, so dokazale tudi nekatere druge študije (Whelan in sod., 2010; Zeevi in sod., 2015). Whelan in sod. (2010), ki so proučevali, ali so glikemični indeksi (GI) živil zadostno vodilo posameznikom, ki se želijo izogniti velikim glikemičnim odzivom in hiperglikemiji, na osnovi študije zaključujejo, da ima vsak posameznik karakteristični glikemični odziv na živila, ki vsebujejo prebavljive ogljikove hidrate in da lahko ta odziv med posamezniki zelo variira. Poleg tega pa avtorji tudi poudarjajo, da je GI dragocen parameter, vendar je njegova uporaba brez poznavanja posameznikovega glikemičnega odziva nepopolna in lahko celo napačna. Avtorji o vzrokih razlik med posamezniki ne razpravljajo, omenijo pa, da niso posledica metodoloških napak. Vpletenost mikrobioma v glikemični odziv so potrdili Zeevi in sod. (2015), ki so v študiji, v katero je bilo vključenih 800 udeležencev, izmerili 46898 post-prandialnih glikemičnih odzivov (PPGO) na različna živila in obroke. Dokazali so veliko variabilnost PPGO na ista živila med posamezniki celo v primeru, ko so uživali enake, standardizirane obroke. V raziskavi so tudi dokazali, da algoritem, ki integrira klinične markerje in dejavnike mikrobioma dobro napove glikemični odziv na kompleksen obrok, značilen za posameznika (personaliziran), in ugotovili različne povezave med funkcijskimi značilnostmi mikrobioma in variabilnostjo glikemičnega odziva.

Študijo Suez in sod. (2014) precej kritizirajo Daly in sod. (2016a), ki v preglednem članku navajajo, da so zaključki, še posebej glede učinka aspartama, ki je dipeptid in se v tankem črevesu razgradi, precej vprašljivi. Kritično ocenjujejo tudi metodološke pristope študij, povečini opravljenih na živalih in na vzorcih blata. Vendar so vprašljivi tudi zaključki njihove študije (Daly in sod., 2016b), v kateri so proučevali vpliv sladila SUCRAM® (vsebuje neohesperidin dihidrohalkon (NHDC) in saharin) na črevesno mikrobioto pujskov. Dodatek sladila naj bi namreč učinkovito preprečeval črevesne motnje in zmanjšal pogine odstavljenih pujskov. Pri pujskih, ki so uživali sladilo, so v slepem črevesu ugotovili značilen porast števila predstavnikov družine *Lactobacillaceae* in zmanjšanje populacij iz družin *Veillonellaceae* in *Ruminococcaceae*, kar »naj bi kazalo na porast koristnih mikrobov«. Ena redkih humanih študij, v kateri so proučevali vpliv aspartama in kalijevega acesulfama na črevesni mikrobiom odraslih, je na primer pokazala izrazite razlike v bakterijski raznovrstnosti/pestrosti med uživalci in neuživalci sladil, ne pa tudi v velikosti populacij (številčnosti) posameznih skupin bakterij na nivoju razreda ali reda (Frankenfeld in sod., 2015). Edina skupna točka študij, ki proučujejo vpliv sladil na črevesno (fekalno) mikrobioto, pa naj bodo opravljene na živalih ali pa ljudeh, so opažanja nekih sprememb strukture mikrobiote ali pa mikrobioma (aktivnosti) ter poudarjanje nujnosti nadaljnjih raziskav. Zakonodaja se zato še vedno opira le na toksikološke študije in vpliva na črevesno mikrobioto ne upošteva. V letu 2013 je tako EFSA po pregledu več kot 600 podatkovnih baz iz študij o aspartamu zaključila, da ni varnostnih pomislekov glede uživanja normalnih količin

aspartama in zato ni razloga, da bi se ga umaknilo s tržišča. Pri utemeljevanju se opira na živalske in humane študije, ki so pokazale, da se aspartam po zaužitju v prebavnem traktu povsem razgradi do aminokislin (asparaginska kislina in fenilalanin) in metanola. Zanimivo je, da so poleg omenjenih metabolitov v študijah zasledili tudi prisotnost 5-benzil-3,6-dioksi-2-piperazin očetne kisline (DKP), ki pa naj bi bila proizvod bakterijskega metabolizma. Panel tudi ugotavlja, da so vsi omenjeni metaboliti varni (EFSA, 2013).

2.2 EMULGATORJI

Medtem ko nudi črevesna mikrobiota gostitelju pomembne koristi, predvsem v metabolizmu in razvoju ter delovanju imunskega sistema, pa so motnje v odnosu in komunikaciji med mikrobioto in gostiteljem povezane z različnimi kroničnimi vnetnimi boleznimi, vključno s kroničnimi vnetnimi črevesnimi boleznimi (KVČB) ter skupino motenj, povezanih s prekomerno telesno maso, ki jih označujemo kot metabolni sindrom.

Glavno obrambo črevesa pred mikrobioto predstavljajo večplastne strukture mukusa, ki prekrivajo črevesno površino in zagotavljajo, da se večina črevesnih bakterij vzdolž črevesa nahaja v varni razdalji od epitelnih celic (Johansson in sod., 2008). Snovi, ki porušijo interakcije med mukusom in bakterijami, lahko povzročijo vnetja in z njimi povezane bolezni. V *in vitro* študiji so Roberts in sod. (2010) dokazali, da emulgatorji, ki so detergentom podobne molekule, povečajo translokacijo bakterij preko epitelijskega mukusa. Chassaing in sod. (2015) so zato predvidevali, da bi lahko emulgatorji prispevali k opaznem porastu KVČB od druge polovice 20. stoletja naprej, ko so postali pogosta sestavina predelanih živil. Svojo hipotezo so potrjevali na modelu miši, ki so jim aplicirali dva pogosta emulgatorja, karboksimetilcelulozo (CMC) in polisorbit-80 (P80). Uporabili so »divji-tip« (WT) miši C57Bl/6 in 2 liniji gensko spremenjenih miši IL10^{-/-} in TLR5^{-/-}, ki so zelo nagnjene k spremembi sestave mikrobiote in razvoju vnetja. Opazili so, da so že relativno nizke koncentracije CMC in P80 inducirale nizko stopnjo vnetja in razvoj debelosti/metabolni sindrom pri WT miših in spodbudile kolitis pri miših, občutljivih za to motnjo. Razvoj vnetja in metaboličnega sindroma je spremljalo prodiranje mikrobiote v notranjost mukusa (proti epitelnim celicam), spremenjena vrstna sestava mikrobiote in povečan pro-vnetni potencial s povečanim deležem mukolitičnih vrst (razgradnja mukusa) in predstavnikov proteobakterij, ki spodbujajo vnetne odzive. Dodatni eksperimenti s sterilnimi mišmi in fekalno transplatacijo so potrdili, da so bile takšne spremembe mikrobiote potrebne in zadostne tako za razvoj nizke stopnje vnetja kot tudi razvoj metaboličnega sindroma.

Podobne rezultate navajata tudi Sing in Ishikawa (2016), ki sta želela ugotoviti, ali lahko mikrobiota, spremenjena zaradi uživanja emulgatorja P80, povzroči motnje v delovanju jeter. Vpliv uživanja P80 na črevesno mikrobioto sta proučevala na WT miši C57Bl/6, ki sta jim z intragastrično sondo aplicirala P80. V primerjavi s kontrolnimi miši so imele miši, ki so uživale emulgator, oslabiljeno glikemično toleranco, hiperinsulinemijo, povišane ravni encimov, ki odražajo oslabiljeno delovanje in poškodbe jeter, večje mitohondrije in povečano velikost žolčnika. Poleg tega so imele miši v eksperimentalni skupini povišane vrednosti deoksiholne kisline (DCA), manjšo debelino mukusa v črevesu in povečano permeabilnost črevesa. Črevesne bakterije so našli globlje v mukusu in bližje črevesnim epitelnim celicam, opazili pa so tudi povišane ravni izražanja lipopolisaharidov, flagelina in lipokalina 2, ki je dober biomarker črevesnega vnetja (Chassaing in sod., 2012). Miši, krmljene s P80, so imele povečanih več parametrov metaboličnega sindroma, vključno s telesno maso, maso maščobe, zaužito

krmo, ravniyo glukoze na tešče in jetrno disfunkcijo, zato avtorja zaključujeta, da lahko uživanje P80 prispeva k razvoju kroničnih vnetnih bolezni.

2.2.1 Karagenan

Karagenan je sulfatiziran polisaharid D-galaktoze in 3,6-anhidro-D-galaktoze z visoko molekulsko maso (200 – 800 kDa), ki se nahaja večinoma v celičnih stenah rdečih alg (*Rhodophyceae*), od koder ga tudi pridobivajo. Poznamo različne tipe karagenana, ki se razlikujejo po stopnji sulfatne substitucije ter prisotnosti 3,6-anhidrogalaktoznih enot. Kot aditivi so pomembni predvsem trije tipi, imenovani iota(ι), kapa (κ) in lambda (λ). Zaradi svojih lastnosti so priljubljeni aditivi v živilstvu, kjer se uporabljajo kot sredstva za želiranje, gostenje in emulgiranje. Uporaba v živilski industriji je zelo široka od mlečnih izdelkov, sladoledov in mesnih izdelkov, do sladice, sadnih sokov in želejev, solatnih dresingov, ... Kot zgoščevala in stabilizatorje jih uporabljajo tudi v kozmetičnih izdelkih, v farmacevtski industriji pa predvsem kot pomožne snovi v tabletah in formulacijah s podaljšanim sproščanjem učinkovin (Campo in sod., 2009).

Karagenan je verjetno eden izmed najbolj izzivalnih aditivov. V ZDA je bil patentiran kot aditiv že leta 1930, leta 1959 pa so mu podelili status GRAS (splošno spoznan kot varen; ang. Generally Regarded as Safe), ki ga ima še vedno kljub raziskavam, ki nakazujejo njegove pro-vnetne učinke ter povezanost s pojavom črevesnih razjed in neoplazem (Tobacman, 2001). Raziskovalci so si precej neenotni v oceni varnosti karagenana. Največ dvomov v varnost uporabe v živilih je v povezavi z izpostavljenostjo razgradnim produktom karagenana z nižjo molsko maso 20 – 30 kDa, imenovanim tudi poligenan. Poligenan namreč pogosto uporabljajo v predkliničnih študijah za induciranje vnetnih procesov v črevesju testnih živali, zato je bila zaskrbljenost glede tveganja za zdravje ljudi povsem upravičena. V Evropi je Znanstveni odbor za hrano (SCF; ang. Scientific Committee for Food) v letu 2003 ponovno obnovil priporočilo iz leta 1992, da se karagenan zaradi pomanjkanja podatkov glede vpliva na razvijajoče se črevesje dojenčkov ne uporablja v formulah za dojenčke do 6. mesecev. Poleg tega je na podlagi predloženih toksikoloških študij odločil, da se k specifikaciji za aditiv karagenan E 407 v Evropi doda zahteva, da sme v karagenanu biti največ 5 % nečistoč v smislu razgradnih produktov < 50 kDa (SCF, 2003). Do nove presoje na evropskem prostoru velja, da na podlagi obstoječih podatkov in zakonsko predvidene uporabe, vključno s specifikacijo aditiva, uporaba aditiva E 407 ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi.

Zdi se, da je glas tistih, ki zagovarjajo varnost karagenana ter njegove zdravju koristne lastnosti (npr. imunomodulatorne, protimikrobne, protivirusne) kljub opozorilom nekaterih raziskovalcev o določenem tveganju, ki ga predstavlja za zdravje, še vedno močnejši. Vendar pa skoraj vsi po vrsti sistematično ignorirajo črevesno mikrobioto. McKim (2014) na primer navaja, da je širjenje napačnih podatkov o varnosti karagenana posledica zmede na področju nomenklature in kemije karagenanov, metod testiranja, različnih eksperimentalnih živali in napačnih interpretacij rezultatov. V svojem preglednem članku se osredotoča predvsem na *in vitro* študije na različnih celičnih modelih ter težave pri prenosu oziroma uporabi rezultatov mehanizmov, pridobljenih v *in vitro* študijah, za oceno tveganja pri ljudeh. Weiner (2014) pa v preglednem članku na osnovi študij na eksperimentalnih živalih zaključuje, da se karagenan ne prebavlja, da ni občutljiv za nizko vrednost pH želodca ali »mikrofloro«. Že »zastarela« izraz mikroflora, ki ga sodobne raziskave zamenjujejo z izrazom mikrobiota kaže na pomanjkanje raziskav na tem področju oziroma pravilneje pomanjkanje raziskav, ki bi ob kemijskih, biokemijskih in toksikoloških vidikih upoštevale tudi mikrobiom. Le redke raziskave proučujejo zmožnost predstavnikov humane mikrobiote razgradnje polisaharidov

celičnih sten rdečih alg, prisotnih v številnih predelanih živilih, kot so karagenani in agarji (Hehemann in sod., 2012; Li in sod., 2017). Z metagenomskimi analizami mikrobiomov zdravih Američanov, Japoncev in Špancev so identificirali domnevne encime za razgradnjo ogljikovih hidratov, ki naj bi bili rezultat horizontalnega prenosa genov iz morskih bakterij, kar kaže na razvoj črevesnih bakterij, sposobnih razgradnje ogljikovih hidratov alg, oziroma na adaptacijo črevesnih mikrobov na moderno (spremenjeno) prehrano. Hehemann in sod. (2012) so v *in vitro* pogojih dokazali horizontalno pridobljen integrativni in konjugativni element, ki je razširil katabolni repertoar izbranega seva *Bacteroides plebeious* in identificirali sev *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-3731, sposoben rasti na karagenanu.

3 ZAKLJUČEK

Raziskave na področju proučevanja vpliva aditivov na humani črevesni mikrobiom so v veliki meri pospešila poročanja nekaterih raziskovalcev, ki so opazili povezavo med dolgoročnim uživanjem nizkokaloričnih sladil ter povečanim pridobivanjem telesne mase, večjim tveganjem za srčno-žilna obolenja, moteno toleranco za glukozo ter večjim tveganjem za nastanek sladkorne bolezni tipa 2, torej vseh bolezenskih tveganj, ki naj bi jih zamenjava sladkorjev z nizkokaloričnimi sladili preprečevala. Ker so rezultati raziskav različni in pogosto diametralno nasprotni, je hipoteza o vpletenosti mikrobioma smiselna. Razlike v strukturi in funkcionalnosti mikrobioma posameznikov so že povezali z različnim glikemičnim odzivom posameznikov na ista živila. Glede na znane strukturne in funkcionalne razlike mikrobiomov posameznikov različni učinki aditivov niso presenetljivi in raziskovalci vse pogostejše delijo posameznike na tiste, ki se na določen aditiv »odzovejo« in tiste, ki se »ne odzovejo«. Pomanjkanje konsenza o negativnem ali pozitivnem vplivu določenega aditiva na mikrobiom je posledica individualnih razlik, razlik v kemijski sestavi in metabolizmu vsakega aditiva ter zaužitih količinah. Glede na število in kemijsko pestrost aditivov, dovoljenih v proizvodnji živil, ter pestrost živil, v katerih se lahko uporabljajo, lahko rečemo, da smo na področju proučevanja vpliva aditivov na humano črevesno mikrobioto še povsem na začetku.

4 VIRI

- Alonso R. V., Guarner F. 2013. Linking the gut microbiota to human health. *British Journal of Nutrition* 109: 21–26
- Anderson R. L., Kirkland J. J. 1980. The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora. *Food and cosmetics toxicology*, 18: 353–55
- Bischoff S. C. 2016. Microbiota and aging. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 19, 1: 26–30
- Brown R. J., Rother K. I. 2012. Non-nutritive sweeteners and their role in the gastrointestinal tract. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97: 2597–2605
- Campo V. L., Kawano D. F., da Silva D. B., Carvalho I. 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77: 167–180
- Chassaing B., Srinivasan G., Delgado M. A., Young A. N., Gewirtz A. T., Vijay-Kumar M. 2012. Fecal Lipocalin 2, a Sensitive and Broadly Dynamic Non-Invasive Biomarker for Intestinal Inflammation. *PLoS ONE* 7(9): e44328. doi:10.1371/journal.pone.0044328
- Chassaing B., Koren O., Goodrich J. K., Poole A. C., Srinivasan S., Ley R. E., Gewirtz A. T. 2015. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*, 519: 92–96
- Daly K., Darby A. C., Shirazi-Beechey S. P. 2016a. Low calorie sweeteners and gut microbiota. *Physiology and Behavior*, 164: 494–500
- Daly K., Darby A. C., Hall N., Wilkinson M. C., Pongchaikul P., Bravo D., Shirazi-Beechey S. P. 2016b. Bacterial sensing underlies artificial sweetener-induced growth of gut *Lactobacillus*. *Environmental Microbiology*, 18, 7: 2159–2171

- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poulet, J.B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., Lionetti, P., 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 14691-14696
- Del Chierico F., Vernocchi P., Bonizzi L., Carsetti R., Castellazzi A. M., Dallapiccola B., de Vos W., Guerzoni M. E., Manco M., Marseglia G. L., Muraca M., Roncada P., Salvatori G., Signore F., Urbani A., Putignani L. 2012. Early-life gut microbiota under physiological and pathological conditions: The central role of combined meta-omics-based approaches. *Journal of Proteomics*, 75: 4580-4587
- Frankenfeld C. L., Sikaroodi M., Lamb E., Shoemaker S., Gillevet P. M. 2015. High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Annals of Epidemiology*, 25: 736-742
- Gottlieb M. G. V., Closs V. E., Junges V. M., Schwanke C. H. A. 2017. Impact of Human Aging and Modern Lifestyle On Microbiota, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2016.1269054>
- Halmos T., Suba I. 2016. Physiological patterns of intestinal microbiota. The role of dysbacteriosis in obesity, insulin resistance, diabetes and metabolic syndrome. *Orvosi hetilap*, 157, 1: 13-22
- Hehemann J-H., Kelly A. G., Pudlo N. A., Martens E. C., Boraston A. B. 2012. Bacteria of the human gut microbiome catabolize red seaweed glycans with carbohydrate-active enzyme updates from extrinsic microbes. *PNAS*, 109, 48; www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1211002109
- Johansson M. E. V., Phillipson M., Petersson J., Velcich A., Holm L., Hansson G. C. 2008. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *PNAS*, 105, 39; www.pnas.org/cgi/doi/10.1073.pnas.0803124105
- Li M., Shang Q., Li G., Wang X., Yu G. 2017. Degradation of Marine Algae-Derived Carbohydrates by Bacteroidetes Isolated from Human Gut Microbiota. *Marine Drugs* 2017, 15, 92; doi:10.3390/md15040092
- McKim J. M. 2014. Food additive carrageenan: Part I: A critical review of carrageenan in vitro studies, potential pitfalls, and implications for human health and safety. *Critical Reviews in Toxicology*, 44, 3: 211-43
- Meyer-Gerspach A. C., Wölnerhanssen B., Beglinger C. 2016. Functional roles of low calorie sweeteners on gut function. *Physiology and Behavior*, 164: 479-481
- Morgan X. C., Segata N., Huttenhower C. 2013. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in Genetics*, 29, 1: 51-58
- Nettleton J. E., Reimer R. A., Shearer J. 2016. Reshaping the gut microbiota: Impact of low calorie sweeteners and the link to insulin resistance? *Physiology and Behavior*, 164: 488-493
- Power S. E., O'Toole P. W., Stanton C., Ross R. P., Fitzgerald G. F. 2014. Intestinal microbiota, diet and health. *British Journal of Nutrition*, 111, 3: 387-402
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D.R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J.M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H.B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Qin, N., Yang, H., Wang, J., Brunak, S., Dore, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., Bork, P., Ehrlich, S.D. 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59-65
- Quercia S., Candela M., Giuliani C., Turroni S., Luiselli D., Rampelli S., Brigidi P., Franceschi C., Bacalini M. G., Garagnani P., Pirazzini C. 2014. From lifetime to evolution: timescales of human gut microbiota adaptation. *Frontiers in Microbiology*, 5, 587: 1-9
- Roca-Saavedra, P., Mendez-Vilabrille, V., Miranda, J.M., Nebot, C., Cardelle-Cobas, A., Franco, C.M., Cepeda, A., 2017. Food additives, contaminants and other minor components: effects on human gut microbiota-a review. *Journal of Physiology and Biochemistry*, in press.
- Roberts C. L., Keita A. V., Duncan S. H., O'Kennedy N., Söderholm J. D., Rhodes J. M., Campbell B. J. 2010. Translocation of Crohn's disease *Escherichia coli* across M-cells: contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifiers. *Gut*, 59: 1331-1339
- Schnorr S. L., Candela M., Rampelli S., Centanni M., Consolandi C., Basaglia G., et al. 2014. Gut microbiome of the hadza hunter-gatherers. *Nature Communications*, 5:3654
- Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive. 2013. *EFSA Journal*, 11, 12: 3496
- Singh R. K., Ishikawa S. 2016. Food Additive P-80 Impacts Mouse Gut Microbiota Promoting Intestinal Inflammation, Obesity and Liver Dysfunction. *SOJ Microbiology and Infectious Diseases*, 4, 1: 10
- Sonnenburg E. D., Sonnenburg J. L. 2014. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell Metabolism*, 20: 779-786

- Sonnenburg E. D., Smits S. A., Tikhonov M., Higginbottom S. K., Wingreen N. S., Sonnenburg J. L. 2016. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature*, 529: 212-216
- Suez J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaïss, C.A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., Elinav, E., 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514: 181-186
- Suez J., Korem T., Zilberman-Schapira G., Segal E., Elinav E. 2015. Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: findings and challenges. *Gut Microbes*, 6, 2: 149—155
- Swithers S. E. 2013. Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24, 9: 431–441
- Tobacman J. K. 2001. Review of Harmful Gastrointestinal Effects of Carrageenan in Animal Experiments. *Environmental Health Perspectives*, 109: 983–994
- Weiner M. L. 2014. Food additive carrageenan: Part II: A critical review of carrageenan in vivo safety studies. *Critical Reviews in Toxicology*, 44, 3: 244-69
- Whelan W. J., Hollar D., Agatston A., Dodson H. J., Tahal D. S. 2010. The Glycemic Response is a Personal Attribute. *IUBMB Life*, 62, 8: 637–641
- Zeevi, D., Korem, T., Zmora, N., Israeli, D., Rothschild, D., Weinberger, A., Ben-Yacov, O., Lador, D., Avnit-Sagi, T., Lotan-Pompan, M., Suez, J., Mahdi, J.A., Matot, E., Malka, G., Kosower, N., Rein, M., Zilberman-Schapira, G., Dohnalova, L., Pevsner-Fischer, M., Bikovsky, R., Halpern, Z., Elinav, E., Segal, E., 2015. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell*, 163: 1079–1094

PERCEPCIJA PREHRANSKIH ADITIVOV S STRANI POTROŠNIKOV

Tanja PAJK ŽONTAR¹

Povzetek: Pri izbiri živil postajajo potrošniki v razvitih državah vse bolj zahtevni in kritični ter želijo živila, ki so varna, zdrava, atraktivnega videza, priročno embalarana, imajo dovolj dolg rok uporabnosti in so nenazadnje cenovno ugodna. Ena izmed možnih rešitev, kako izpolniti številna kompleksna potrošnikova pričakovanja vezana na kakovost, varnost in videz živila je dodajanje aditivov. Le ti so s strani potrošnikov prepoznani kot snovi, ki za zdravje nimajo koristnih lastnosti oz. mu lahko celo škodijo. Potrošniki iz različnih geografskih območij so različnim aditivom, kot so konzervansi, ojačevalci arome, barvila in sladila, različno naklonjeni. Vzrok za različen odnos do aditivov naj bi bil predvsem v različni namembnosti le teh kot tudi v poznavanju zakonodaje s področja aditivov, znanju potrošnikov o aditivih in nenazadnje v načinu poročanja o aditivih v medijih. Ustrezno informiranje in izobraževanje potrošnikov o prehranskih aditivih, tako glede njihovih funkcij v živilih, kot tudi njihovega označevanja in morebitnih tveganjih, je ključnega pomena za realno percepcijo aditivov s strani potrošnikov.

Ključne besede: aditivi, potrošnik, informiranje, izobraževanje, percepcija, znanje

THE CONSUMER'S PERCEPTION OF FOOD ADDITIVES

Abstract: Consumers in developed countries are becoming more and more demanding when selecting food and they want food that is safe, healthy, with attractive appearance, conveniently packaged, has a long shelf life and is affordable. One of the possible solutions to implement a number of complex customer expectations regarding quality, safety and appearance of foods is the use of food additives. Consumers identify food additives as substances with either no beneficial properties for health or they may even be harmful for health. Consumers from different geographical areas have different perception of different food additives such as preservatives, flavor enhancers, colors and sweeteners. The reason for the different attitudes towards food additives is mainly due to different purposes of additives, as well as the knowledge of the legislation regarding food additives, consumer's knowledge about food additives and the manner in which mass media reports on the subjects involving food additives. Realistic perception of additives by the consumers can be achieved by providing appropriate information and education for the consumers, both in terms of food additives function in food, as well as their labeling and possible risks.

Key words: additives, consumers, information, education, perception, knowledge

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

1 UVOD

Pri izbiri živil postajajo potrošniki v razvitih državah vse bolj zahtevni in kritični ter na trgovskih policah želijo živila, ki so varna, kar naj bi se redno nadzorovalo s strani neodvisnih institucij (BEUC, 2015). Poleg tega potrošniki želijo, da so živila zdrava, atraktivnega videza, priročno embalirana, da je embalažo možno ponovno hermetično zapreti, imajo dovolj dolg rok uporabnosti in so nenazadnje cenovno ugodna (BEUC, 2015; Grunert, 2005; Kaptan in Kayisoglu, 2015). Poleg tega potrošniki želijo, da proizvajalci v živilih zmanjšajo količine hranil kot so maščobe, sol in sladkor ter ne vsebujejo aditivov in drugih kemikalij. Hkrati potrošniki želijo, da je živilo proizvedeno na način, pri katerem njegova proizvodnja ne obremenjuje okolja, poskrbljeno pa je tudi za dobro počutje živali (primerna reja in zakol) (BEUC, 2015).

Izpolnjevanje potrošnikovih kompleksnih, pogosto nasprotujočih zahtev za proizvajalce živil ni enostavna naloga (Kaptan in Kayisoglu, 2015). Ena izmed možnih rešitev, kako izpolniti številna potrošnikova pričakovanja vezana na kakovost, varnost in videz živila, je dodajanje aditivov. Pri tem je potrebno poudariti, da bi, kot je navedeno v uredbi EU (Uredba (EU) št. 1333/2008), dodatek aditiva ali aditivov moral imeti prednosti in ugodnosti za potrošnike s tem, da izpolnjuje enega ali več namenov kot so ohranja hranilno vrednost živila; zagotavlja surovine ali sestavine živil, proizvedenih za skupine potrošnikov s posebnimi prehranskimi potrebami; izboljša ohranjanje kakovosti ali obstojnosti živila ali izboljša njegove senzorične lastnosti, če s tem ne zavaja potrošnika ter nenazadnje zagotavlja pomoč pri proizvodnji, predelavi, pripravi in aditiv za živila ni uporabljen za prikrivanje učinkov uporabe neustreznih surovin ali katerih koli neželenih praks ali postopkov, vključno z nehiigienskimi praksami ali postopki.

2 OZNAČEVANJE ADITIVOV – ALI SO POTROŠNIKI LAHKO ZAVEDENI?

Aditivi za živila so snovi, ki se običajno ne uživajo kot živilo, ampak se predvsem iz tehnoloških razlogov namensko dodajajo živilom (Uredba (EU) št. 1333/2008), zaradi česar aditivi sodijo med sestavine živil in morajo biti na embalaži, v okviru navedenih sestavin, obvezno označeni. V Uredbi EU št. 1169/2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom pomeni „sestavina“ vsako snov ali proizvod, vključno z aromami, aditivi za živila in encimi za živila, ter vsako sestavino v sestavljenih sestavinah, ki se uporabljajo v proizvodnji ali pri pripravi živila in so še vedno prisotni v končnem proizvodu, tudi če so v spremenjeni obliki; ostanki se ne štejejo za „sestavine“.

Zakonodaja (Uredba (EU) št. 1333/2008) dovoljuje označevanje aditivov na dva načina. V obeh primerih je obvezna navedba tako imenovanega funkcijskega razreda aditiva za živila, le ta določa vlogo oz. tehnološko funkcijo aditiva za živilo v živilu. Funkcijski razredi aditivov za živila so na primer »barvila«, »konzervansi«, »sladila«, »antioksidanti«, »želirna sredstva« in drugo. Poleg funkcijskega razreda mora proizvajalec navesti prodajno ime aditiva, kot so na primer tartrazin, likopen, aspartam, očetna kislina, karagenan in druga ali črko E in pripadajočo številko za posamezni aditiv, kot za predhodno navedene aditive sledijo po vrstnem redu E 102, E 160d, E 951, E 260 in E 407.

Primeri označevanja aditivov:

1. ojačevalec arome: mononatrijev glutamat in
2. ojačevalec arome: E 621.

Rezultati primerjalnega potrošniškega testiranja živil in tržni pregledi živil, ki ju izvaja Zveza potrošnikov Slovenije (www.zps.si), kažejo da se v zadnjih letih vse več proizvajalcev odloča za označevanje aditivov s funkcijskim razredom in prodajnim imenom aditiva in ne s črko E in pripadajočo številko, kar potrošnike lahko zavede. S takšnim načinom označevanja proizvajalec »prekrije« aditive tistim potrošnikom, ki ne želijo kupovati živil, ki so označena z E-ji (Pajk Žontar in Peterman, 2010).

Potrošnik je lahko pri izbiri živil zaveden tudi, ko proizvajalec na embalaži poudarja ne-vsebnost določenega funkcijskega razreda aditivov, kot na primer »Brez konzervansov«, »Brez umetnih barvil«, »Brez ojačevalcev arome« in podobno. Pri takšnih navedbah potrošnik, zaradi nezadostnega znanja s področja aditivov in premajhne informiranosti na tem področju, lahko sklepa, da živilo ne vsebuje aditivov, kar pa ne drži (Pajk Žontar in Peterman, 2010).

3 ODGOVORNOST POTROŠNIKOV

Eden izmed razlogov za porast izdelkov z aditivi je tudi nekritično povpraševanje potrošnikov oziroma njihove nakupovalne navade. Potrošniki torej tudi sami nosijo del odgovornosti za vse več živil z aditivi na naših trgovskih policah.

Odrpito ostaja vprašanje, zakaj potrošniki kupujejo pisane bombone in pijače z barvili, jogurte s sladili in gostili, kislo repo in čevapčiče s konzervansi, juhe iz vrečke z ojačevalci arome, in še bi lahko naštevali, če pa lahko izbere enaka živila, ki ne vsebujejo aditivov? V današnji hitro živeči družbi je tudi želja potrošnikov, da imajo živila čim daljši rok uporabnosti, kar ni vedno skladno z naravo določenega živila, zaradi česar jim proizvajalci, za zagotavljanje varnosti dodajo aditive - konzervanse.

Hkrati je tudi vse več potrošnikov, ki želijo živila, ki aditivov ne vsebujejo oz. zavračajo živila, ki le te vsebujejo. Na potrošnikove želje v zvezi z zmanjšanjem oz. ne-dodajanjem aditivov v živila, se je industrija odzvala z reformuliranimi in novimi izdelki, ki na primer ne vsebujejo več ojačevalcev arome, barvil, konzervansov in drugih aditivov.

Ena izmed v zadnjem obdobju bolj vidnih sprememb je povečana ponudba brezalkoholnih pijač, katerih dodani sladkor so zamenjala sladila. Znano je, da je sladkor v zadnjih nekaj letih, zaradi epidemije debelosti in posledično vse več osveščanja o škodljivosti njegovega prekomernega uživanja, pri vse več potrošnikih postal hranilo, ki se mu v čim večji meri želijo izogniti. Ali je takšna rešitev za potrošnike boljša, saj nekatere znanstvene raziskave opozarjajo, da naj bi več zaužitih sladil povečalo občutek lakote in posledično povzročilo povečanje telesne mase, ni predmet te razprave.

4 PERCEPCIJA PREHRANSKIH ADITIVOV

V poznih 70-ih letih in zgodnjih 80-ih letih so potrošniki postali prepričani, da so aditivi nevarni in se je potrebno živilom, ki jih vsebujejo, izogniti (Kaptan in Kayisoglu, 2015). Čeprav so v sredini 90-ih letih potrošniki pričeli spoznavati potencialne koristi dodajanja aditivov, pa je prepričanje, da so aditivi škodljivi ostalo zasidrano še vse do danes. Raziskava Eurobarometer (EC, 2010) je na primer pokazala, da je kar 66 % evropskih potrošnikov zelo ali dokaj zaskrbljenih glede vsebnosti aditivov v živilih.

Znano je, da se pri potrošnikih poveča strah, kadar so živila, njihove sestavine in/ali tehnološki postopki, s katerimi so živila proizvedena, za potrošnike neznani (Boel

Nielsen in sod., 2009). Neznane stvari namreč dajejo vtis nepoznavanja, ki se posredno odraža kot dojemanje večjega tveganja za zdravje. Raziskave tudi kažejo (Song in Schwarz, 2009), da so potrošniki ocenili aditive, katerih imena je težje izgovoriti, kot potencialno bolj škodljive, kot tiste, katerih imena so lažje izgovorili, kar je posredno povezano z zaznavo nove – nepoznane sestavine.

Dosedanje raziskave v zvezi s percepcijo aditivov v živilih s strani potrošnikov so bile usmerjene predvsem v percepcijo aditivov na splošno. V zadnjih letih obstaja vse več dokazov, ki kažejo da je percepcija različnih prehranskih aditivov s strani potrošnikov različna (Bearth in sod., 2014). Tako na primer študija o vplivu sprejemljivosti, tveganju in koristih aditivov (Bearth in sod., 2014) navaja, da čeprav v znanstvenih prispevkih in zakonodajnih aktih ne obstaja ostra ločnica med aditivi naravnega in sintetičnega izvora, potrošniki poznajo izvor aditivov; aditivi sintetičnega izvora pri potrošnikih predstavljajo negotovost. Poleg tega raziskave kažejo, da potrošniki različne kategorije aditivov kot so konzervansi, ojačevalci arome, barvila in sladila, dojemajo različno. Percepcija prehranskih aditivov s strani potrošnikov, torej njihova subjektivna presoja glede nevarnosti oz. tveganja, ki jih imajo za zdravje aditivi, je različna pri potrošnikih iz različnih držav (Szűcs, 2014; Bearth in sod., 2014). Vzrok za različen odnos do aditivov naj bi bil predvsem v različni namembnosti le teh. Tako so na primer barvila in sladila pri potrošnikih iz Švice ocenjena kot najbolj sporni aditivi, saj namen njihovega dodajanja ni zagotavljanje varnosti hrane, kot ga na primer imajo konzervansi. Pri dodajanju konzervansov imajo namreč po njihovem mnenju vsi potrošniki koristi, to je zagotavljanje varnosti živil, medtem, ko imajo od sladil koristi le nekateri potrošniki; tisti, ki bi želeli zmanjšati telesno maso ali bolniki. Ravno obratno ocenjujejo konzervanse madžarski in korejski potrošniki in sicer naj bi le ti med aditivi imeli največje tveganje za zdravje (Shim in sod., 2014; Szűcs, 2014). Potrošniki iz Švice in Romunije so še najmanj naklonjeni barvilom, saj po njihovem mnenju nimajo za njihovo zdravje nobenega pomena (sladila npr. zmanjšujejo energijsko vrednost živila in ne povzročajo kariesa) (Szűcs, 2014; Bearth in sod., 2014). Barvila ocenjujejo kot dodatek živilom, ki ima več prednosti za proizvajalce kot za potrošnike, saj je enostavneje prodajati živila atraktivnega videza, zaradi česar so tudi dobički proizvajalcev večji. Poleg tega se je živilom z barvili težje izogniti kot živilom s sladili, saj je vsebnost sladil na izdelkih običajno jasno, poudarjeno označena kot na primer "light" in "diet". V raziskavi (Bearth in sod., 2014) so ugotovili tudi, da na percepcijo sladil in barvil vplivata tudi odnos potrošnikov do "naravnih" živil in zaupanje v zakonodajalce. Potrošniki, ki sladilom in barvilom pripisujejo več tveganj za zdravje, dajejo prednost "naravnim" živilom, manj zaupajo zakonodajalcem in so slabše seznanjeni z zakonodajo o aditivih in obratno.

5 PERCEPCIJA PREHRANSKIH ADITIVOV S STRANI SLOVENSКИH POTROŠNIKOV

Percepcija prehranskih aditivov s strani slovenskih potrošnikov je razmeroma slabo raziskano področje. Javnomnenjska raziskava o varnosti hrane in prepoznavnosti EFSA v Sloveniji (MKGP, 2015) je pokazala, da smo slovenski potrošniki takoj za ostanki veterinarskih zdravil (antibiotiki, hormoni) v mesu zelo zaskrbljeni glede dodatkov oz. aditivov v živilih, kot so barvila, konzervansi ali snovi, ki dajejo hrani in pijači okus. Glede aditivov v živilih je zelo zaskrbljenih in kar zaskrbljenih 83,4 % Slovencev. Pri tem je zanimivo, da so deleži zelo in kar zaskrbljenih glede vsebnosti aditivov podobni pri obeh spolih, kar na splošno pri percepciji aditivov ne drži; ženske na splošno dopuščajo manjše tveganje v zvezi s hrano in aditive zaznavajo kot snovi, ki

predstavljajo tveganje za zdravje (Bearth in sod., 2014). Razlog za večjo zaskrbljenost žensk glede aditivov je tudi v tem, da ženske vrednotijo živila na osnovi drugačnih parametrov kot moški. Ženskam je na primer bolj pomemben vpliv na zdravje in nizka energijska vrednost živila, zaradi česar lahko posledično bolj sprejemajo sladila.

Raziskava (MKGP, 2015) je pokazala tudi, da vsebnost aditivov najmanj skrbi ljudi z osnovno izobrazbo ali manj, ravno obratno velja za ljudi, ki imajo višjo izobrazbo od osnovne. Tudi Kaptan in Kayısoglu (2015) navajata, da turški potrošniki z nižjo izobrazbo bolj zaupajo vladnim institucijam v zvezi z aditivi v živilih. Študija percepcije sintetičnih aditivov pri švicarskih potrošnikih pa je pokazala negativno povezavo med ljudmi, ki imajo znanje s področja zakonodaje o aditivih in percepcijo tveganja aditivov (Bearth in sod., 2014). Razlike v zaskrbljenosti glede vsebnosti aditivov v živilih so v različnih slovenskih regijah različne in sicer vsebnost aditivov v živilih najbolj skrbi ljudi iz Spodnjeposavske regije (85 %), najmanj pa ljudi iz Notranjo-kraške regije (35,3 %). V primerjavi s podobnima preteklima raziskavama iz leta 2011 in 2013 (MKGP, 2011; MKGP, 2013) se je nekoliko zmanjšala zaskrbljenost prebivalcev glede dodanih aditivov.

Da Slovence vsebnost aditivov v živilih zanima, je pokazala tudi raziskava o prehrabnih navadah odraslih prebivalcev Slovenije z vidika varovanja zdravja (2009). Izmed tistih Slovencev, ki pred nakupom preverijo (58 % anketirancev je odgovorilo z redko, občasno, pogosto ali vedno), kaj živilo vsebuje, jih 65 % vedno in pogosto preveri prav vsebnost aditivov. Temu sledi vsebnost maščob (56 %), energijska vrednost (48 %), vsebnost sladkorja (42 %) in vsebnost vitaminov/mineralov (41 %).

6 VPLIV MEDIJEV NA PERCEPCIJO PREHRANSKIH ADITIVOV

Raziskava percepcije aditivov pri potrošnikih iz Madžarske, Romunije in Španije je pokazala, da je na splošno povezovanje aditivov z večjim tveganjem za zdravje Madžarov in Romunov verjetno delno tudi posledica informacij iz medijev in različnih afer, povezanih z aditivi, o katerih poročajo v madžarskih in romunskih medijih. Španskih mediji, kot navajajo v raziskavi, o tovrstnih informacijah ne poročajo (Szűcs, 2014).

Ena izmed bolj odmevnih afer, povezanih z aditivi, je bila leta 2005, ko so bili s trga javno odpoklicani izdelki, ki so vsebovali nedovoljeno barvilo tako imenovano Sudan I. Barvilo, ki ga povezujejo z nastankom rakavih obolenj, so nelegalno dodajali živilom kot so različne omake, juhe in gotova živila (RASFF, 2005).

V letu 2007 so mediji več poročali tudi o tako imenovanih azo-barvilih (E 102, E 104, E 110, E 122, E 124, E 129), ki jih lahko vsebujejo bomboni, slaščičarski izdelki, gazirane pijače in začimbe. Znanstveniki v Veliki Britaniji (Sauthampton) so namreč z raziskavo ugotovili, da je uživanje azo-barvil povezano s hiperaktivnostjo otrok (Pajk Žontar in Peterman, 2010). Dve leti kasneje je EFSA, Evropska agencija za varnost hrane, pripravila mnenje o varnosti uživanja azo-barvil. Ponovno vrednotenje varnosti azo-barvil je pokazalo, da bi bili do takrat sprejemljivi dnevni vnosi omenjenih barvil za posamezne populacijske skupine, predvsem otroke, lahko visoki. EFSA je takrat zmanjšala sprejemljivi dnevni vnos za barvila E 104, E 110 in E 124. Upoštevajoč previdnostno načelo pa je v direktivi Evropske komisije zakonsko postavljena zahteva, da morajo biti živila, ki vsebujejo eno ali več azo-barvil, opremljena tudi z napisom »lahko škodljivo vpliva na aktivnost in pozornost otrok« (Uredba (EU) št. 1333/2008).

Zavajajoče informiranje o aditivih preko tako imenovanih medijev, v okviru katerih se le tem pripisuje neugodne učinke na zdravje, kot so rakava obolenja in toksičnost, pri potrošnikih vzbuja strah pred aditivi (Shim in sod., 2014). Potrošniki tudi navajajo, da večino informacij o aditivih prejmejo ravno preko medijev.

Afere povezane z aditivi potrošniki razumejo tudi kot “vsi aditivi so potencialno nevarni”. V takšnih trenutkih je ključnega pomena neodvisno, objektivno, nezavajajoče podajanje informacij s strani medijev, s čimer neposredno vplivajo na percepcijo aditivov pri potrošnikih.

7 JE UPORABA ADITIVOV VEDNO UPRAVIČENA?

Rezultati primerjalnega potrošniškega testiranja živil (ZPS, 2017) kažejo, da uporaba aditivov ni vedno upravičena. V nadaljevanju je navedenih le nekaj od primerov, pri katerih uporaba aditivov ob ustrezni higieni in dobro nadzorovanem tehnološkem postopku ne bi bila potrebna.

Kisli repi in zelju nekateri proizvajalci dodajajo konzervanse, kot sta kalijev sorbat (E 202) in natrijev benzoat (E 211) (Pajk Žontar, 2010). Danes stroka z vidika varnosti ne priporoča več dodajanja konzervansov kisli repi in zelju, saj je znano, da jih pri higiensko ustreznem in strokovno vodenem ter nadzorovanem tehnološkem procesu ne potrebujemo. Aditive dodajajo tudi hrenovkam, med njimi je kar nekaj nepotrebnih, kot so sredstva za zgostitev, sredstva za uravnavanje kislosti, glukozni sirup in ojačevalci arome. Dodajanje ojačevalca arome, najpogostejše E 621, hrenovkam ni upravičeno, saj naj bi le-te vsebovale zadostne količine kakovostnega mesa, ki da izdelku aromo (Pajk Žontar, 2011). Nekatere hrenovke vsebujejo tudi barvilo (E 120) (Pajk Žontar, 2015b). Namesto njega bi lahko dodali ekstrakt paprike. Barvilo E 120 dodajajo tudi nekaterim sadnim jogurtom, čeprav bi le tem barvo lahko izboljšali z dodajanjem nekaterih sokov kot so sok pese, korenčka in črnega ribeza (Pajk Žontar, 2014a). Aditive (konzervanse) vsebujejo tudi nekatere brezalkoholne pijače, kot so ledeni čaji. Dodajanje konzervansov pijačam s tehnološkega vidika ni potrebno, seveda pod pogojem, da so le te polnjene na liniji, ki zagotavlja mikrobiološko neoporečnost (aseptičnost) (Pajk Žontar, 2014b). Konzervanse dodajajo tudi suhemu sadju, na primer marelicam, zaradi česar so le te lepše, oranžne barve (Pajk Žontar in Peterman, 2010).

8 POTROŠNIK SE ADITIVOM LAHKO IZOGNE

Vse več potrošnikov povprašuje po živilih, ki aditivov ne vsebujejo, oz. kategorično zavrača vsa živila, ki le te vsebujejo. Izobraževanje potrošnikov o pomenu posameznih skupin aditivov oz. njihovi vlogi v živilih kot tudi njihovo informiranje glede možnosti izbire živil brez aditivov, postaja vse bolj pomembno.

Na splošno velja nekaj pravil, ki lahko potrošnikom omogočijo lažjo izbiro živil brez aditivov, in sicer:

- Preden živilo kupimo prvič, preberemo, katere sestavine vsebuje.
- Kupujemo osnovna živila in jih doma sproti pripravljamo.
- Uporabljajmo sveže ali posušene začimbe.
- Ne kupujemo instant živil.
- Kupujemo ekološko pridelana živila.

- Izberemo 100 % sadne sokove namesto brezalkoholnih (ne)gaziranih pijač, navaden jogurt namesto sadnega in jogurtnih napitkov, presno meso namesto konzerv, sir namesto topljenega sira in drugo (Pajk Žontar in Peterman, 2010).

9 IZOBRAŽEVANJE IN INFORMIRANJE POTROŠNIKOV

Vse večji delež informiranja potrošnikov danes poteka preko spletnih strani in družbenih medijev kot sta Facebook in Twitter. Prav ti sodobni komunikacijski mediji so danes postali glavni vir informacij o prehrani. Čeprav predstavljajo mediji v širšem pomenu te besede enega najpomembnejših načinov za informiranje potrošnikov o prehrani, pa v njih pogosto lahko zasledimo informacije, ki so enostranske in/ali zavajajoče (Pajk, 2015a). Na spletnih portalih, ki potrošnikom nudijo informacije o aditivih, lahko potrošniki najdejo predvsem informacije o njihovi škodljivosti. Hkrati na teh istih portalih lahko preberemo, da je opis aditivov narejen na podlagi internetnih virov ter da upravitelj spletne strani ni odgovoren za točnost podatkov.

Potrošniki bi med drugim morali biti informirani, da so mnogi aditivi snovi, ki so naravno prisotne v živilih, v sadju in zelenjavi, kot sta npr. askorbinska kislina (E 300) in pektini (E 440), ter da je dodajanje aditivov še vedno utemeljeno takrat, ko ob primernih tehnoloških pogojih in dobri proizvodni praksi ni možno zagotoviti varnosti živila. Potrošnike je potrebno seznaniti, da je uživanje (patogenih) mikroorganizmov, ki bi se lahko razvili v pokvarjenem živilu, večje tveganje za zdravje kot aditiv, ki to preprečuje (Pajk Žontar in Peterman, 2010). Raziskava znanja o aditivih pri potrošnikih iz Koreje (Shim in sod., 2011) je na primer pokazala, da potrošniki z vidika varnosti ocenjujejo aditive kot bolj nevarne v primerjavi z mikroorganizmi, pri tem pa izpostavljajo, da kar 91 % v raziskavo vključenih potrošnikov želi imeti več znanja kot tudi več informacij o prehranskih aditivih. Tudi raziskava iz Velike Britanije je pred leti pokazala, da potrošniki ne poznajo prednosti in koristi kot tudi morebitnih tveganj aditivov, kar kaže na to, da je izobraževanje potrošnikov nujno (Shim in sod., 2011).

Študije kažejo, da je poznavanje oz. potrošnikova percepcija tveganja in koristi aditivov bistvenega pomena pri odločitvi potrošnikov za sprejetje nekega aditiva. Povedano drugače, prepoznavanje aditivov kot nezdravih sestavin hrane, zmanjša sprejetje aditivov in obratno, prepoznavanje koristi oz. prednosti uporabe aditivov spodbudi ljudi k njihovem boljšemu sprejetju (Bearth in sod., 2014). Pri tem ima ključni pomen izobraževanje potrošnikov, saj raziskave kažejo (Shim in sod., 2014), da so potrošniki po ustreznem izobraževanju o aditivih le tem bolj naklonjeni. Izobraževanje potrošnikov bi moralo biti usmerjeno tako na funkcije aditivov, ki jih le ti imajo v živilih, načinih označevanja kot tudi njihovem nadzoru, le tako bi bilo možno preprečiti nesporazume glede aditivov.

Glede na zaskrbljenost potrošnikov v zvezi z aditivi v živilih, bi potrošnike morali neodvisno izobraževati in informirati tudi o funkciji posamezne kategorije aditivov, njihovi varnosti, označevanju in načinih izvajanja njihovega nadzora kot tudi o potencialnih vplivih na njihovo zdravje, saj se posledično pri potrošnikih zmanjša strah pred aditivi oz. se povrne zaupanje vanje (Kaptan in Kayısoglu, 2015; Bearth in sod., 2014). V okviru izobraževanja potrošnikov bi bilo smiselno poudariti, da naj potrošniki izbirajo živila na osnovi vseh sestavin in ne le na osnovi odsotnosti aditivov. Le ustrezno informiran potrošnik lahko sprejme preudarno odločitev pri izbiri živil, le ta bi morala biti narejena na osnovi poznavanj tako tveganj kot koristi aditivov v živilih (Bearth in sod., 2014).

Študije kažejo, da strah pred aditivi progresivno narašča (Shim in sod., 2011). Morda “fobija” pred aditivi v zadnjih letih, ko nekateri potrošniki v celoti zavračajo živila z aditivi v prepričanju, da so nevarni za zdravje, sicer ni vedno razumna in osnovana na strokovnih temeljih, vendar je pričakovana. Strah pred aditivi je ob skrbno načrtovanem obveščanju potrošnikov o kompleksnosti zagotavljanja varnosti živil, kamor sodi tudi znanstvena ocena tveganja aditivov za živila, ena od možnih uspešnih strategij za izražanje bolj pozitivnih občutkov in večjo sprejemljivost aditivov s strani potrošnikov (Bearth in sod., 2016). Glede na to, da sodi neodvisno informiranje in izobraževanje potrošnikov med osnovne pravice potrošnikov, se na koncu postavi tudi vprašanje kdaj in kje imajo potrošniki možnost prejeti neodvisne informacije v zvezi z aditivi v živilih?

10 CELOSTNI POGLED NA ŽIVOLO

Pri izbiri živil je treba upoštevati vse sestavine. To še posebej velja pri izbiri živil, ki so namenjena rizičnim skupinam potrošnikov, kot so dojenčki, (majhni) otroci, noseče in doječe ženske, starejši in bolniki. Živila ne izbiramo zgolj na podlagi tega, ali vsebujejo aditive ali ne, temveč (predvsem) na osnovi tega ali vsebujejo, in v kakšnih količinah, določena hranila, kot so sladkorji, maščobe, sol in drugo. Raziskave Zveze potrošnikov Slovenije (ZPS, 2017) so pokazale, da je v mnogih živilih, ki so sicer ustrezna glede vsebnosti aditivov, veliko sladkorja, maščobe in/ali soli in lahko, če jih uživamo pogosto predstavljajo tveganje za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni. Poleg tega so raziskave pokazale, da mnoga živila, ki so sicer lahko ustrezna glede vsebnosti posameznega hranila (npr. nizka vsebnost maščobe), vsebujejo veliko drugega hranila (npr. visoka vsebnost sladkorja), katerega uživanje je smiselno za ohranjanje dolgoročnega zdravja, omejiti (Pajk Žontar in Peterman, 2010).

11 ZAKLJUČEK

Aditivi za živila, ki se uporabljajo od približno začetka tega stoletja, so pomembna skupina snovi, saj lahko ugodno vplivajo tako na varnost, kakovost in nenazadnje na videz živila (Szűcsin sod., 2014; Kaptan in Kayisoglu, 2015). Na splošno pa imajo potrošniki do aditivov in njihove vse pogostejše uporabe v živilih, ki vedno ni upravičena, vse bolj odklonilen odnos. Le neodvisno informiranje in izobraževanje potrošnikov glede koristi, označevanja kot tudi morebitnih tveganj, ki jih pripisujejo aditivom, lahko potrošnikom omogoči realno percepcijo aditivov.

12 VIRI

- Boel Nielsen H., Sonne, A.-M., Grunert K. G., Banati, D., Pollák-Tóth A., Lakner Z., Veflen Olsen, N., Pajk Žontar T., Peterman M. 2009. Consumer perception of the use of high-pressure processing and pulsed electric field technologies in food production. *Appetite*, 52: 115-126
- Bearth A., Cousin M.-E., Siegrist M. 2014. The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*, 38: 14-23
- Bearth A., Cousin M.-E., Siegrist M. 2016. “The Dose Makes the Poison”: Informing Consumers About the Scientific Risk Assessment of Food Additives. *Risk Analysis*, 36, 1: 130 - 144
- BEUC. 2015. The consumer view on food innovation: 11 str. <http://www.beuc.eu> (maj 2017)
- EC. 2010. Special Eurobarometer 354, Food-related risks. Brussels, European Commission: 168 str. <http://ec.europa.eu> (maj 2017)
- Grunert K.G. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. *European Review of Agricultural Economics*, 32, 3: 369 – 391
- Kaptan B., Kayisoglu S. 2015. Consumers' attitude towards food additives. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*, 2, 2: 21 – 25

- MKGP. 2011. Raziskava javnega mnenja o tveganjih, povezanih z nanotehnologijo, o varnosti hrane in prepoznavnosti Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) v Sloveniji. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 44 str. <http://www.mkgp.si> (maj 2017)
- MKGP. 2013. Raziskava javnega mnenja o varnosti hrane in prepoznavnosti Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) v Sloveniji. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, EFSA informacijska točka. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 51 str. <http://www.mkgp.si> (maj 2017)
- MKGP. 2015. Javnomnenjska raziskava o varnosti hrane in prepoznavnosti EFSA v Sloveniji. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 66 str. <http://www.mkgp.si> (maj 2017)
- Pajk Žontar T., Peterman M. 2010. Aditivi v živilih. Ljubljana, Mednarodni inštitut za potrošniške raziskave: 16 str. <https://www.zps.si> (maj 2017)
- Pajk Žontar T. 2010. Ne pozabimo na kislo repo: Vipov test kisle repe. VIP, 20, 2: 16-19
- Pajk Žontar T., 2011. Velike razlike v kakovosti: test piščančjih hrenovk. VIP, 21, 6: 8-12
- Pajk Žontar T., 2014a. V nekaterih je sadja le za vzorec, veliko pa je sladkorja: tržni pregled sadnih jogurtov v lončku z okusom jagode in gozdnih sadežev. VIP, 24, 1: 18-22
- Pajk Žontar T., 2014b. Ledeni čaji - čaja le za vzorec. VIP, 22, 7/8: 34-37
- Pajk Žontar T. 2015a. Potrošniki, trženje živil in mediji. V: Hrana, prehrana in mediji. Korošec M., Polak T., Demšar L. (ur.). Biotehniška fakulteta: 98 - 109
- Pajk Žontar T. 2015b. Še dobro, da obstaja gorčica ... : test predpakiranih hrenovk. ZPS test, 25, 7/8: 30-33
- RASFF. 2005. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), Annual Report 2005: 40 str: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en (maj 2017)
- Shim S.-M., Seo S. H., Lee Y., Moon G.-I., Kim M.-S., Park J.-H. 2011. Consumers' knowledge and safety perceptions of food additives: Evaluation on the effectiveness of transmitting information on preservatives. Food Control, 22: 1054 - 1060
- Song H., Schwarz N. 2009. If It's Difficult to pronounce, it must be risky. Psychological Science, 20, 2: 135 - 138
- Szűcs V. 2014. Consumer risk perception of food additives. Corvinus university of Budapest. Doctoral school of landscape architecture and landscape ecology: <http://www.phdportal.com/studies/15268/landscape-architecture-and-landscape-ecology.html> (maj 2017)
- Szűcs V., Szabo E., Banati D. 2014. Factors affecting the avoidance of food additives in Hungary. Journal of Hygienic engineering and Design, 8: 61 - 66
- Uredba (EU) št. 1169/2011 evropskega parlamenta in sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom. 2011. Uradni list Evropske unije, L304: 18 – 63
- Uredba (EU) št. 1333/2008 evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o aditivih za živila. 2008. Uradni list Evropske unije, L354: 16 – 33
- ZPS. 2017. Zveza potrošnikov Slovenije. <https://www.zps.si/index.php/hrana-in-pijaa-topmenu-327/kakovost-ivil> (maj 2017)

F4F – FUNKCIONALNA ŽIVILA PRIHODNOSTI

Mateja MODIC¹

Povzetek: Razvoj funkcionalnih živil je ena temeljnih smernic razvoja v globalni živilsko-predelovalni branži, kar je tudi priporočilo WHO (World Health Organisation). V skladu s temi smernicami so oblikovani tudi specifični cilji projekta Funkcionalna živila prihodnosti (F4F). F4F razvija trajnostno pridelavo kakovostne hrane ter vpliva na vzpostavitev inovativnih, kratkih dobavnih verig. Projekti se izvajajo na področju trajnostne pridelave in predelave prehranskih produktov v funkcionalna živila ter razvoja tehnologij za trajnostno rastlinsko in živilnorejsko proizvodnjo. Razvojno delo poteka na dveh glavnih sklopih produktivnih skupin: 1. obogatena živila z dodatnimi funkcionalnimi lastnostmi in 2. živila z zmanjšano vsebnostjo neželenih snovi. V programu deluje 7 verig dodane vrednosti (žito, mleko, meso, sadje/zelenjava, med, prehranski dodatki in inteligentna embalaža). Program sestavlja 11 projektov, v katerih je cilj razviti 9 skupin prototipov. Celoten program poteka skozi faze TRL 3-4 in TRL 5-6. Cilji bodo doseženi skozi sodelovanje vodilnih slovenskih mednarodno priznanih raziskovalnih institucij in podjetij. Konzorcij sestavlja 16 partnerjev, in sicer 8 podjetij (Žito d.o.o., Frutarom Etol d.o.o., Mlekarna Celeia d.o.o., Droga Kolinska d.d., Medex d.o.o., Valens int. d.o.o., Amba Co. d.o.o. in Jata Emona d.o.o.) in 8 raziskovalnih institucij (Institut Jožef Stefan; Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta; Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo; Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo; Nacionalni inštitut za biologijo; Kemijski inštitut; VIST - Visoka šola za storitve; Kmetijski inštitut Slovenije). Projekt traja 4 leta, skupna vrednost prijavljenega programa je 8.773.623,93 EUR, višina sofinanciranja pa 5.992.204,91 EUR. Naložbo sofinancirata Evropska unija iz Evropskega sklada za regionalni razvoj in Republika Slovenija.

Ključne besede: F4F, funkcionalna živila,

F4F – FOOD FOR FUTURE

Abstract: The development of functional foods is a fundamental development orientation in the food processing industry and a recommendation of the World Health Organization (WHO). In conformance with these guidelines, the specific goals of the project Food for Future (F4F) have been designed. F4F develops sustainable production of high-quality food and impacts the establishment of innovative, short supply chains. Projects are conducted in the field of sustainable production and processing of food products to functional foods as well as the development of technologies for sustainable crop and livestock production. The developmental work is conducted upon two prime sets of product groups: 1) Enriched foods with added functional properties; and 2) Foods with a reduced content of undesirable substances. In the programme, 7 chains of added value (cereal, milk, meat, fruit/vegetable, honey, food additives, and intelligent packaging). The programme comprises 11 projects, the aim of which is to develop 9 prototype groups. The entire programme is conducted through the stages TRL 3–4 and TRL 5–6. The aim will be achieved through the collaboration of the leading Slovenian, internationally acclaimed research institutions and companies. The consortium consists of 16 partners – 8 companies (Žito d.o.o., Frutarom Etol d.o.o., Mlekarna Celeia d.o.o., Droga Kolinska d.d., Medex d.o.o., Valens int. d.o.o., Amba Co. d.o.o. and Jata Emona d.o.o.) and 8 research institutions. (The Jožef Stefan Institute; The University of Ljubljana, Biotechnical faculty; The University of Maribor, Faculty of Mechanical Engineering; The University of Maribor, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering; The National Institute of Biology; The National Institute of Chemistry; VIST – Higher School of Applied Sciences; The Agricultural Institute of Slovenia). The project lasts for 4 years, the total value of the registered programme is EUR 8,773,623.93, whereas the co-financing amounts to EUR 5,992,204.91. The investment is co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund and by the Republic of Slovenia.

Key words: F4F, functional food

¹ dr., Žito d.o.o., Šmartinska 154, 1000 Ljubljana, e-mail: mateja.modic@zito.si

STRATEŠKO RAZVOJNO-INOVACIJSKO PARTNERSTVO SRIP HRANA

Petra MEDVED DJURAŠINOVIĆ¹ in Tatjana ZAGORC²

Povzetek: SRIP HRANA je strateško razvojno-inovacijsko partnerstvo na področju trajnostne pridelave hrane. SRIP HRANA želi postati osrednje nacionalno stičišče, namenjeno povezovanju in sodelovanju ambicioznih in v razvoj usmerjenih deležnikov na področju kmetijstva, živilstva in s tema dvema sektorjema povezanih področij. Za doseganje večje konkurenčnosti, rasti in napredka agroživilskega sektorja (kmetijstva in živilskopredelovalne industrije) preko inovacijskih aktivnosti in povezovanj, je v akcijskem načrtu SRIP HRANA opredeljenih pet ključnih področij, ki so med seboj tesno povezana: surovine in trajnostna raba virov (1), pametno načrtovanje procesov in procesna kontrola (2), napredna oprema in tehnologije za pridelavo in predelavo hrane (3), higiena, varnost in kakovost hrane (4), hrana, prehrana in potrošnik (5). SRIP HRANA predstavlja osrednjo platformo dinamične skupnosti kmetijskih gospodarstev, podjetij, združenj, razvojno-raziskovalnih ustanov, investorjev in drugih deležnikov, katerih pozornost je usmerjena v ciljno intenziviranje razvojnih in raziskovalnih aktivnosti za potrebe industrije. Eden izmed ključni izzivov SRIP HRANA je, kako spodbuditi večje število MSP in celotnih verig k vzpostavitvi poslovnega modela, ki se osredotoča na pomen inovacij, raziskav in razvoja integriranih izdelkov ter storitev. SRIP HRANA je specifičen, ker si prizadeva dvigniti razvojno naravnost vseh potencialnih verig na področju pridelave in predelave hrane. Zgolj tako obsežen konzorcij članov lahko doprinese k iskanju skupnih rešitev na opredeljenih prioritetnih področjih raziskovanja, kot tudi na področju prenosa znanja v industrijo in celovitega upravljanja agroživilskega sistema. To je pa osnova, da lahko panoga izkaže dolgoročne uspehe, tudi v smislu pozitivnih kazalnikov poslovanja in nenazadnje inovacijskega preboja ter s tem dviga konkurenčnosti.

Ključne besede: SRIP HRANA, strateško razvojno-inovacijsko partnerstvo, trajnostna pridelava hrane, inovativnost, konkurenčnost

STRATEGIC RESEARCH-INNOVATION PARTNERSHIP SRIP HRANA

Abstract: SRIP HRANA is a strategic research-innovation partnership for sustainable food production. SRIP HRANA wants to become a national central point aimed to collaborate and integrate ambitious and development-driven stakeholders in the field of agriculture, food and related fields. In order to achieve greater competitiveness, growth and progress of the agri-food sector through innovation activities and integration, SRIP HRANA action plan identifies five key priorities that are closely interrelated: Raw materials and sustainable use of resources (1), Smart process design and process control (2) Advanced equipment and technology for food production and processing (3), Hygiene, safety and food quality (4), Food, nutrition and consumer (5). SRIP HRANA represents a central platform of a dynamic community of agricultural holdings, enterprises, associations, research and development institutions, investors and other stakeholders whose main focus is to target the intensification of development and research activities for industry needs. One of key challenges for SRIP HRANA is how to encourage a greater number of SMEs along the whole agri-food chain to establish a business model that focuses on the importance of innovation and research in the development of integrated products and services. SRIP HRANA is specific as it aims to raise the developmental orientation of all the potential chains in food production and food processing. Only a consortium of members of this kind can contribute to finding common solutions on identified priority areas of research, as well as knowledge transfer and overall agri-food chain management. SRIP HRANA will have a long-term positive influence for the agri-food sector, as well as positive business indicators, innovation breakthrough and rise of competitiveness.

Key words: SRIP HRANA, research-innovation partnership, sustainable food production, innovations, competitiveness

¹ dr., Gospodarska Zbornica Slovenije, Zbornica kmetijskih in živilskih podjetij, Dimičeva 13, 1504 Ljubljana, e-mail: petra.medved@gzs.si

² dr., Gospodarska Zbornica Slovenije, Zbornica kmetijskih in živilskih podjetij, Dimičeva 13, 1504 Ljubljana, e-mail: tatjana.zagorc@gzs.si

SPONZORJI

29. Bitenčevih živilskih dnevov

Aditivi v živilih – Prednosti in tveganja

instruMentalia

PRIMAlab
a member of the Metrohm group

FRUTAROM
FOUNDED 1933 **etol**
since 1924

DONAU LAB Ljubljana
Member of LPPgroup

SPAR

Pekarna **PEČJAK**

enemon
URAVNOTEŽENA PREHRANA
ZA AKTIVEN ŽIVLJENJSKI SLOG

CHEMASS
MERILNI SISTEMI

LJUBLJANSKE MLEKARNE
Tradicija. Skrb. Zanesljivost.

refeCTa

JPK
Instruments

Pekarna **Mekronos**

1945
FRUCTAL
v sodelovanju z naravo

60^{let}
KLET BRDA
Predani rebuli že od 1957

COSTELLA
ZVEZDA NARAVE

Mercator-Emba
Proizvodnja hrane d.d.

barcaffé

Orbit

Mercator *ip*