

✓

ZAKLJUČNO POROČILO

O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

5. Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

2. Šifra projekta:

V4-0331

3. Naslov projekta:

Kakovostni parametri lokalno pridelanega sadja in njihov vpliv na človeški organizem v zdravju in bolezni

 REPUBLIKA SLOVENIJA NOSILEC JAVNEGA POOBLASTILA JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST REPUBLIKE SLOVENIJE, LJUBLJANA		Sig. z:
		040
Prejeto:	16-10-2009	Pril.:
Številka zadeve:	63113-26106	Vrednost:
		29

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Kakovostni parametri lokalno pridelanega sadja in njihov vpliv na človeški organizem v zdravju in bolezni

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Quality parameters of fruits of local origin and their influence on human body in healthiness and illness

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

Jabolka, ekološka pridelava, integrirana pridelava, kakovost, primarni metabolit, sekundarni metaboliti, antioksidativni status, kronične bolezni

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

Apples, organic production, integrated production, quality, primary metabolites, secondary metabolites, antioxidative status, chronic diseases

Povzetek

V projektu smo poskušali ovrednotiti pomen uživanja lokalno pridelanih, kakovostnih jabolk za zdravje ljudi. Pri tem smo izpostavili kakovost sadja in jo preverili tako iz tehnološkega vidika kot tudi iz potencialnega učinka na zdravje. V tehnološkem delu smo vrednotili nekatere tehnološke ukrepe in njihov vpliv na kakovost jabolk, predvsem na fenolne snovi kot pomembne antioksidante v jabolkih. Ugotovili smo, da so fenoli precej obstojni in se tudi z skladiščenjem in po izskladiščenju bistveno manj spreminjajo kot primarni metaboliti (sladkorji, organske kisline). Na njihovo vsebnostjo v sadju poleg tehnologije pridelave vplivajo stresni pogoji, zato ekološko pridelano sadje vsebuje teh snovi nekoliko več. Med posameznimi regijami v Sloveniji se jabolka po vsebnosti sekundarnih metabolitov bistveno ne razlikujejo ob predpostavki, da imamo plodove prve kakovosti pridelane na primerljiv način. Prav tako so slovenska jabolka po vsebnosti fenolnih snovi primerljiva z jabolki iz sosednjih držav. V medicinskih raziskavah smo prišli do nekaterih povsem novih medicinskih spoznanj. Odkrili smo sezonski ritem oksidativnega statusa v telesu in povsem na novo ovrednotili vpliv uživanja jabolk na ta ritem. Prav tako smo ugotovili, da uživanje jabolk izboljša sezonski ritem predvsem v obdobju po zimi. Na novo smo spoznali možne mehanizme, ki doprinesejo k zmanjšanju dejavnikov tveganja za kardiovaskularne bolezni in pozitivno vplivajo na respiratorne bolezni kot je astma. Z *in vitro* testi na monouklearnih celicah smo na novo odkrili, na kakšen način imajo lahko flavonoidi iz jabolk ugoden vpliv na tisti del imunskega sistema človeškega telesa, ki pomembno sodeluje pri nastajanju kardiovaskularnih bolezni in pljučnih bolezni. Izpopolnili smo nekatere laboratorijske metode in ustvarili multidisciplinarni team.

Summary

In this project the importance of consumption of locally produced, high-quality apples on human health was evaluated. The quality parameters of fruit were evaluated both by the technological point of view as well as the potential beneficial impact on health. In the technological part, we have evaluated some of the technological measures and their impact on the quality of apples, especially the content of phenolic substances as important antioxidants in apples. We found that the content of phenols is quite constant in apples and that little change is present in their content during storage and even after keeping them at ambient temperature. Primary metabolites (sugars, organic acids) are much more affected by storage. The content of phenols in fruits is greatly affected by technical measures as well as various stress conditions; therefore, organic fruit contains slightly more of these substances. Comparing the content of secondary metabolites in apples, no regional differences are apparent in Slovenia, assuming that the first quality of apple fruit is grown at similar technological measures. Also, Slovenian apples contain similar content of phenolic substances when compared with apples from neighboring countries. In medical research we have come to some completely new medical knowledge. A seasonal rhythm of oxidative status in the human body was determined and a complete re-evaluation of the effect of apple consumption from the viewpoint of this rhythm was described. We also found that consumption of apples improves the seasonal rhythm, especially in the post-winter time. New knowledge of possible mechanisms, that can reduce risk factors for cardiovascular disease and have a positive effect on respiratory diseases such as asthma, was established. The *in vitro* tests of monuclear cells revealed the beneficial effect of flavonoids from apple fruit on the part of the immune system of the human body, which plays a significant part in the emergence of cardiovascular and pulmonary diseases. We have refined some laboratory methods and created a multidisciplinary team.

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

Ministrstvo za zdravje

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

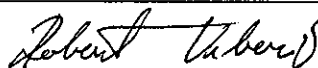
20165

Robert Veberič

Datum: 12.10.2009

Podpis vodje projekta:

doc. dr. Robert Veberič

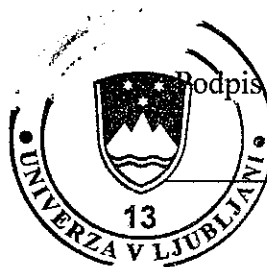


Prof.dr. Radovan Stanislav Pejovnik
rektor

Podpis in žig izvajalca:

Po pooblastilu:
prof.dr. Franc Štampar

DEKAN


1

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- ☒ a) v celoti
☐ b) delno
☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- ☐ a) da
☒ b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

Sadje je veliko več kot le skupek vitaminov in vlaknin, kot se to velikokrat predstavlja v raznih publikacijah o njegovem pomenu za zdravje. Poleg primarnih metabolitov, kot so sladkorji, organske kisline, maščobne kisline, vlaknine in vitamini, vsebuje še sekundarne metabolite, med katere uvrščamo različne vrste fenolov. S svojimi biološkimi učinki sadje pozitivno vpliva na fizično in mentalno zdravje ter počutje človeka. Sekundarni metaboliti, s poudarkom na fenole, pa s svojo zmožnostjo vezave prostih radikalov lahko pomembno vstopajo v procese preprečevanja kroničnih bolezni in delujejo tudi antimutageno in s tem antikancerogeno. Vedno več je dokazov, da posamezne sestavine sadja, posebej, če ga uživamo redno in v zadostnih količinah, pomembno vplivajo na človeški organizem in ugodno vplivajo na procese metaboličnega ravnotežja v njem. Čeprav še ni dokazov za to, se predpostavlja, da so vplivi sadja na človeški organizem tako v zdravju kot v bolezni močno pogojeni s kakovostjo sadja. Na kakovost sadja vplivajo tako primarni kot tudi sekundarni metaboliti, zato je cilj ponuditi prebivalstvu sadje z zadostno vsebnostjo primarnih in sekundarnih metabolitov. Predpostavlja se, da lokalno pridelano sadje na integriran in ekološki način lahko vsebuje večje količine primarnih metabolitov (sladkorji, organske kisline) in sekundarnih metabolitov (različne skupine fenolov) kot sadje, ki ga pripeljemo iz drugih pridelovalnih področij izven Slovenije in je zato kvalitetnejše in bolj optimalno v smislu vpliva na človeški organizem v zdravju in bolezni. Zato je pomembno, da se preveri najprej vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov fenolov v lokalno pridelanemu sadju, ga primerja z uvoženim sadjem in razvije metodologija ugotavljanja njegovih antioksidantnih učinkov na procese v človeškem organizmu, ki so pomembni za nastanek in progres kardiovaskularnih bolezni (to je bolezni srca, ožilja ter cerebrovaskularnih bolezni) in drugih kroničnih, predvsem pljučnih bolezni. Obe skupini bolezni namreč zaradi svoje pogostosti predstavljata pomembno obremenitev celotnega prebivalstva, še posebej pa odraslega, redno aktivnega prebivalstva.

Cilji projekta:

1. Ugotoviti v kakšni meri lahko tehnološki ukrepi povečujejo vsebnost primarnih (sladkorji, organske kisline) in sekundarnih metabolitov (skupni in posamezni fenoli, antioksidativni potencial) v jabolkih.
2. Ugotoviti kako različne tehnologije pridelave (integrirana, ekološka) vplivajo na kakovost jabolk (vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov)
3. Ugotoviti kako različni pridelovalni okoliši v Sloveniji vplivajo na različno vsebnost snovi in s tem na kakovost jabolk ter določiti bolj in manj primerna območja pridelave z vidika kakovosti.
4. Ugotoviti ali se jabolka pridelana v Sloveniji razlikujejo v kakovostnih parametrih od jabolk pridelanih v pridelovalnih območjih izven Slovenije.
5. Ugotoviti ali imajo jabolka iz integrirane, lokalne pridelave na procese v človeškem organizmu enak vpliv kot ekološko pridelana jabolka, če se ne bodo pomembno razlikovala v vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov.
6. Ugotoviti ali imajo kakovostna lokalno pridelana jabolka ugoden vpliv na dejavnike, ki se vpletajo v mehanizme nastanka in progressa nekaterih kardiovaskularnih in pljučnih

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

bolezni.

V okviru projektne skupine smo izvedli več delovnih sestankov, kjer smo se pogovarjali o načrtovanju in poteku zastavljenih poskusov. Iskali smo tudi načine kako čim širši javnosti predstaviti delo in rezultate našega projekta, saj je uživanje sadja bistvenega pomena za človeški organizem, kar poleg naše študije kaže vedno več objav v mednarodnem tisku. Sodelovanje med soizvajalci je potekalo uspešno in v skladu z medsebojnim dogovorom o sodelovanju.

Preko več manjših poskusov smo poskušali uresničiti cilje projekta:

1.) Poskus v katerem smo proučevali različne obremenitve dreves ter vpliv obremenitev na kakovost plodov smo izvajali 2 leti. Poskus smo izvajali na sorti 'Fuji', ki je med potrošniki precej priljubljena, je pa znana po nagnjenosti k izmenični rodnosti. Da bi drevesa te sorte primerno obremenili smo drevesom priredili različna obravnavanja. Ugotovili smo, da ob primerni oskrbi dreves lahko bistveno povečamo pridelek ob še vedno primerljivi kakovosti (skupne kisline, trdota, suha snov). V okviru obstoječega poskusa smo vrednotili tudi posamezne sladkorje (saharoza, glukoza, fruktoza, sorbitol), organske kisline (jabolčna, citronska) ter skupne in izbrane fenole (iz skupin: hidroksicimetne kisline, katehini, antocainidini, flavonoli, dihidrokalkoni) s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti. Ugotovili smo, da v vsebnosti navedenih snovi ni bilo značilnih razlik med obremenitvami.

Pri potrošniku je poleg kakovosti sadja, ki jo zagotovi sadjar z raznimi tehnološkimi ukrepi pomembno tudi kakšna je obstojnost sadja v trgovini na polici ali pa tudi kasneje doma. Tako kakovost imenujemo polična kakovost. V poskusu, ki smo ga izvedli na sortah 'Zlati delišes', 'Jonagold' in 'Idared', smo želeli ugotoviti kako se ta kakovost spreminja, če so jabolka na sobni temperaturi. Jabolka so bila po krajšem skladiščenju izpostavljena sobni temperaturi in za analizo vzorčena ob izpostavitvi sobni temperaturi, po enem, dveh, štirih, sedmih, desetih, štirinajstih, sedemnajstih in enaindvajsetih dneh po izskladiščenju. Ugotovljeno je bilo, da se parametri kot so trdota plodov in vsebnost škroba s časom zmanjšujeta, kar ima za posledico, da so takšna jabolka manj čvrsta oz. bolj mokasta. Od primarnih metabolitov smo analizirali ogljikove hidrate saharozo, fruktozo, glukozo, sorbitol ter organske kisline citronska, jabolčna, šikimska in fumarna kislina. Vsebnost skupnih sladkorjev med polično kakovostjo niha. Najprej naraste, nato se pa ponovno zniža. Verjetno je porast posledica razgradnje škroba do katerega pride. Posamezni sladkorji imajo precej različen potek. Saharoza pada po izskladiščenju, glukoza raste, fruktoza najprej naraste in se potem zmanjša, sorbitol se le malo spreminja. Vsebnost skupnih kislin se po izskladiščenju zmanjšuje in je podobna poteku jabolčne kisline.

Od fenolnih snovi smo določili različne skupine fenolov. Posebej smo jih določili v kožici in pulpi. V skupini kvercetinov, ki so v glavnem prisotni v kožici smo ugotovili, da se njihova vsebnost med izskladiščenjem zmanjšuje pri sorti 'Jonagold' oz. najprej poveča, potem pa zmanjša pri ostalih dveh sortah. Pri fenolnih kislinah in flavan-3-olih smo ugotovili, da se pri vseh treh sortah v kožici najprej njihova vsebnost po izskladiščenju zmanjša in nato ponovno poveča. Podobno se pri sorti 'Idared' kaže tudi v mesu pri navedenih dveh skupinah, medtem ko nekateri izmed fenolov pri ostalih dveh sortah kažejo naraščanje fenolnih snovi. Iz vsega navedenega sklepamo, da so fenolne snovi v jabolkih, ki so izpostavljena skladiščenju zelo odzivne na vse spremembe, ki se v plodovih

in okolju dogajajo.

2.) Pri primerjavi vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov iz integrirane in ekološke pridelave smo zastavili poskus o povezanosti infekcije s škrlupom in sintezo fenolnih snovi kot predstavniki sekundarnih metabolitov. V ta namen smo primerjali vsebnosti fenolov v sortah, ki so občutljive na jablanov škrlup (sorte, ki so primerne za integrirano pridelavo) in sort, ki so na škrlup odporne in omogočajo ekološko pridelavo jabolk. Ugotovili smo, da so imajo sorte iz ekološke pridelave bistveno višjo vsebnost fenolnih substanc v primerjavi z standardnimi občutljivimi sortami, ki jih gojimo v integrirani pridelavi. To smo poleg genotipa pripisali tudi načinu pridelave. Prav tako smo ugotovili, da po infekciji s škrlupom pride do naglega porasta fenolnih snovi, zlasti iz skupine flavonoidov. Predvideva se, da te snovi sodelujejo v odzivu rastline na okužbo in sicer tako, da se nalagajo v celični steni ali pa da oksidirajo in s tem inaktivirajo encime patogenega organizma. Ugotovili smo, da vsebnost teh snovi najvišja na mestu infekcije in v neposredni bližini, manjša se pa z oddaljenostjo od simptomatične pege. Kljub sposobnosti občutljivih sort za sintezo teh snovi pa le –te ne uspejo zaustaviti prodiranja glive. Poleg vsebnosti je verjetno ključen dejavnik tudi odzivni čas od okužbe do sinteze teh snovi.

3) Skušali smo ugotoviti kako pridelovalni okoliši vplivajo na kakovost sadja. V ta namen smo analizirali plodove iz Slovenskih goric, Celjske in Krške regije. Vsa tri območja po dosednji rajonizaciji veljajo kot območja primerna za pridelavo jabolane. S pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti smo analizirali sorte 'Idared', 'Jonagold' in 'Zlati delišes' kot tri najpomembnejše sorte. Sorte smo analizirali na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov. Ugotovili smo, da se pridelovalna območja bistveno ne razlikujejo med seboj ob predpostavki, da gre za pridelavo plodov izenačene prve kakovosti. Iz navedenega sklepamo, da je obstoječa rajonizacija ustrezna.

4.) Izvedli smo poskus, kjer smo primerjali slovenska jabolka z jabolki iz drugih držav. V ta namen smo povzorčili plodove v trgovinah. V vseh primerih smo izbrali prvokakovostne plodove. Analizirane sorte so bile 'Zlati delišes', Braeburn', 'Fuji' in 'Jonagold'. Vse sorte so bile pridelane na integriran način. Za primerjalne države smo izbrali Avstrijo in Italijo, ki obe veljata za pomembni pridelovalki jabolk, ki se pojavljajo tudi na slovenskem trgu. Tudi pravila za integrirano pridelavo sadja so podoba. V plodovih (ločeno v kožici in pulpi) smo analizirali posamezne fenolne snovi. Fenolne snovi so poleg drugih parametrov kakovosti pomemben pokazatelj kakovosti sadja, saj vplivajo pozitivno na procese v telesu. V analizo so bili vključeni fenoli iz različnih skupin. Prevladujoča skupina so bili flavonoidi. V kožici jabolk smo analizirali 11 fenolnih snovi, v pulpi pa 6 fenolnih snovi. Vsebnosti fenolnih snovi so v kožici plodov bistveno višje kot v sami pulpi. To je posledica dejstva, da kožica predstavlja zunanjo bariero in ščiti plodove pred vplivi okolja. Analiza je pokazala, da pri veliki večini fenolov ni bilo statističnih razlik med izvorom sorte. Še največ razlik je bilo v vsebnosti flavan-3-olov, vendar so bile te razlike različne od sorte do sorte tako, da ne moremo trditi, da se plodovi med državami bistveno razlikujejo po sami vsebnosti analiziranih fenolnih snovi. Za bolj natančne analize bi bila potrebna bolj detajlna študija okoljskih in pridelovalnih dejavnikov v proučevanih državah.

5. in 6.) V medicinskih raziskavah smo se osredotočili predvsem na integrirano pridelana jabolka, saj je te pridelave v Sloveniji 95%, medtem, ko je ekološko pridelanih jabolk

malo in je težko zagotoviti večje količine kakovostno izenačenih plodov, enake velikosti za daljše časovno obdobje, zlasti pa v pozno pomladanskem obdobju. V medicinskem delu raziskav smo opravili raziskave pri zdravih prostovoljcih in bolnikih, v katerih smo želeli potrditi zastavljeno hipotezo, da visoko kakovostna, lokalno pridelana jabolka pomembno vplivajo na antioksidativni status v telesu. Saj je vedno bolj znano, da prav motnje v antioksidativnem statusu sodelujejo pri praktično vseh kroničnih boleznih "moderne" časa, vključno z boleznimi kardiovaskularnega sistema, pljučnimi boleznimi ter rakastimi boleznimi in da sadje ugodno vpliva na zdravje prav z uravnovešanjem oksidacijskega statusa v telesu, čeprav je ta vpliv še zelo slabo raziskan v primerjavi z poznavanjem ugodnega vpliva sadja na zdravje zaradi vsebnosti vitaminov, mineralov in blastnih snovi. Raziskave smo opravili na tak način, da smo lahko ugotavljali, kakšen je vpliv jabolk na vse zgoraj opisane procese tekom celega leta, tako v obdobju, ko so na voljo sveža jabolka, kot v obdobju, ko so na voljo le jabolka iz hladilnice, saj smo ugotovili, da vlada tako v laičnem kot strokovnem okolju, da naj bi se v tem obdobju jabolkom ugodne vpliv na zdravje pomembno zmanjšal. Nadalje smo opravili in vitro raziskave na mononuklearnih celicah periferne krvi, ki smo jih spodbujali na dva načina, tako da se aktivira celični in humoralni odziv vnetja, ki naj bi oba imela pomemben vpliv na mehanizme nastanka kroničnih bolezni "moderne časa" in ugotavljali, kako na ta odziv vplivajo v medij dodani antioksidanti - flavonoidi iz jabolk z namenom, da potrdimo hipotezo, da imajo že sami antioksidanti iz jabolk neposreden ugoden vpliv na vnetno dogajanje, saj je vnetje eden izmed najbolj pomembnih "neklasičnih" dejavnikov tveganja za bolezni "moderne časa". Intervencije, ki zmanjšujejo to vnetje pa najpomembnejši ukrepi za preprečevanje nastanka in izboljševanje poteka teh bolezni. Ravno zato naj bi imelo uživanje sadja tako velik pomen v zdravem načinu življenja. V prvi raziskavi smo ugotavljali spremembe v antioksidativnem statusu in vnetnem statusu telesa, ki smo ga določali z meritvijo kazalcev oksidativnega stresa in meritvijo za bolezni "moderne časa" najpomembnejših citokinov pri desetih mladih zdravih moških z že izraženimi dejavniki tveganja za kardiovaskularne bolezni, ki so v jesenskem in pomladanskem obdobju štiri tedne uživali tri jabolka sorte 'Jonagold' iz integrirane slovenske pridelave, ne da bi ob tem kakorkoli načrtno spreminjali svoj življenjski slog, niti ostale prehrane niti ritma dela, gibanja in spanja. Ugotovili smo, da je antioksidativni potencial izmerjen z določanjem eritrocitne katalaze in glutathion peroksidaze, pomembno nižji v pomladanskem času kot v jesenskem. Uživanje jabolk je pomembno zvišalo raven parametrov antioksidativnega potenciala v obeh obdobjih in to do enake, višje ravni. Med klasičnimi dejavniki tveganja smo ugotovili znižanje LDL holesterola, kar je že znano. Zaključili smo, da lahko z uživanjem treh jabolk na dan poleg že znanega vpliva na LDL holesterol zvišamo antioksidativni status in da redno uživanje jabolk bistveno bolj pomembno vpliva na izboljšanje antioksidativni status v pomladanskem obdobju, ko je antioksidativni potencial izhodiščno nižji kot v jesenskem obdobju. S tem smo ovrgli prepričanje, da jabolka v spomladanskem času, ko so že nekaj časa hranjena v hladilnicah, izgubijo večino svojega ugodnega vpliva na zdravje. Poleg tega smo iz primerjave vpliva uživanja jabolk spomladi in jeseni predpostavili, da najverjetneje obstaja plato, do katerega lahko antioksidativni status izboljšamo, preseči pa ga samo z uživanjem jabolk ne moremo. V raziskavi, ki smo jo opravili pri desetih bolnikih z astmo smo primerjali antioksidativni status z eritrocitno katalazo in glutathion peroksidazo v primerjavi z zdravimi preiskovanci. tudi v tej raziskavi so vsi preiskovanci uživali štiri tedne tri jabolka dnevno ne da bi spremenili svoj slog življenja. Raziskavo smo opravili v pomladanskem času, saj smo iz prejšnje raziskave ugotovili, da ima uživanje jabolk v tem času večji vpliv kot jeseni. Bolniki z astmo so bili v kronični stabilni fazi bolezni, zdravljeni samo z

inhalacijskimi zdravili, nihče ni jema peroralnih kortikosteroidov, ki bi lahko pomembno spremenili odziv na intervencije. Nihče ni imel dokazane alergije na jabolka. V primerjavi z zdravimi kontrolami smo pri bolnikih ugotovili pomembno nižje vrednosti eritrocitne katalaze in glutationperoksidaze. Po uživanju jabolk so se vrednosti zvišale, vendar je bil odgovor na uživanje jabolk v skupini bolnikov z astmo manjši kot v kontrolni skupini, še vedno pa prisoten. Tudi citokinski status se pri bolnikih z astmo pomembno razlikuje od citokinskega statusa pri zdravih, vpliv uživanja jabolk je pomembnejši pri bolnikih kot pri zdravih, kjer so bili citokini praktično v normalnem območju. Na Mikrobiološkem inštitutu smo modificiralil metodo in vitro stimulacije mononuklearnih celic iz periferne krvi z lipopolisaharidazo, ki je močan stimulator vnetja. Monouklearne celice smo inkubirali z lipopolisahridom in sočasno v medij dodajali različne koncentracije flavonoidov iz jabolk. Nato smo po različno dolgih dobah inkubacije merili v medij sproščene citokine celičnega in humoralnega odziva. Citokinski odziv se je zmanjšal. Predpostavili smo, da je to lahko eden izmed pomembnih mehanizmov, prek katerih flavonoidi iz jabolk ugodno vplivajo na preprečevanje in boljši potek kardiovaskularnih in pljučnih bolezni. Podobni rezultati v literaturi doslej še niso bili opisani.

V povezavi z medicinskim delom projekta smo vrednotili vsebnost fenolnih snovi v sorti 'Jonagold' glede na to ali so bili plodovi vzeti iz hladilnice po nekajtedenskem skladiščenju ali pa šele po nekajmesečnem skladiščenju v mesecu maju. Vizualno se plodovi med seboj niso razlikovali in tudi po okusu pomladanski plodovi niso bili slabši. Analiza fenolov je pokazala, da v mesu oz. pulpi, ki je glavni del plodu, ki ga pojemo, ni nobenih statističnih razlik v vsebnosti velike večine fenolov, edino ferulna in klorogenska kislina kažeta zmanjšanje vsebnosti od jeseni do pomladi, kar pa ne vpliva na vsebnost skupnih fenolov in antioksidativni potencial pulpe. V kožici je situacija nekoliko drugačna. Vsebnost fenolov je v njej v bistveno višjih koncentracijah, vendar je delež kožice glede na celoten plod, ki ga pojemo precej majhen in ne presega 10 %. Ker kožica predstavlja zunanjo bariero plodu napram dejavnikom okolja, so tu procesi bolj dinamični kot v pulpi. Ugotovili smo, da so se tako nekateri fenoli od jeseni do pomladi zmanjšali (epikatehin, kavina kislina), medtem ko so se nekateri povečali (zlasti skupina kvercetinov, ki jih v kožici najdemo veliko). Velika večina fenolov je ostala v kožici nespremenjena, kar se je odrazilo tudi na vsebnosti skupnih fenolov in antioksidativnem potencialu kožice. Kar se tiče primarnih metabolitov, je bilo v spomladanskih plodovih manj sladkorjev z izjemo sorbitola, ki ga je bilo v spomladanskem terminu nekoliko več. Manjši je bil tudi nivo citronske kisline, medtem ko je nivo jabolčne kisline ostal nespremenjen. Jabolčna kislina je tudi glavna sadna kislina, ki daje jabolkom okus. Verjetno gre nižjo vsebnost sladkorjev pripisati dihanju plodov tekom skladiščenja.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- ☒ a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- ☒ b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- ☒ c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- ☒ d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- ☒ e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- ☒ a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- ☐ b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- ☒ c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- ☒ d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- ☒ e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- ☒ f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- ☒ g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- ☒ h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- ☐ i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

V projektu smo poskušali ovrednotiti pomen uživanja kakovostnih jabolk za zdravje ljudi. Pri tem smo izpostavili kakovost sadja in jo preverili tako iz tehnološkega vidika kot tudi iz zdravstvenega učinka, ki ga ima.

ad 3.1. V medicinskih raziskavah smo prišli do nekaterih povsem novih medicinskih spoznanj, odkrili sezonski ritem oksidativnega statusa v telesu, ki je bil doslej opisan le v nekaj raziskovalnih člankih in povsem na novo odkrili vpliv uživanja jabolk na ta ritem, ugotovili smo da uživanje jabolk izboljša ta ritem predvsem v obdobju po zimi, na novo smo spoznali možne mehanizme, ki doprinesejo k izboljšanju dejavnikov tveganja za kardiovaskularne bolezni in izboljšajo potek astme, z in vitro testi na monouklearnih celicah smo na novo odkrili, na kakšen način imajo lahko flavonoidi iz jabolk ugoden vpliv na tisti del imunskega sistema človeškega telesa, ki pomembno sodeluje pri nastajanju kardiovaskularnih bolezni in pljučnih bolezni. Izpopolnili smo nekatere laboratorijske metode in ustvarili multidisciplinarni team, ki dobro izvede medicinske raziskave. Vzpodbili smo aplikacijo metodologije medicinskih raziskav tega projekta tudi pri drugih raziskavah, ki potekajo v naši ustanovi.

ad 3.2.a - Rezultati projekta so namenjeni podpori in razvoju kmetijstva, natančneje sadjarstva. Z medicinske strani smo z rezultati raziskav, ki so pokazali ugodne učinke uživanja lokalno pridelanih jabolk skozi vse leto, in predstavitvijo rezultatov slovenski javnosti, podprli vrednost naporov vloženih v spodbujanje sadjarstva na slovenskem in verjetno povečali porabo lokalno pridelanih jabolk. S preučevanjem pridelovalnih tehnologij smo ugotovili kako se z določenimi prijemi lahko vsebnost zdravju koristnih snovi dodatno optimizira.

ad 3.2.c - Rezultati projekta posredno pozitivno vplivajo tudi na racionalno izrabo energije, saj z uživanjem lokalno pridelanih jabolk zmanjšamo porabo energije zaradi transporta hrane. .

ad 3.2.d - Rezultati projekta posredno s spodbujanjem uživanja lokalno pridelanega sadja pozitivno vplivajo na razvoj podeželja.

ad 3.2.e - Rezultati projekta posredno s spodbujanjem uživanja lokalno pridelanega sadja pozitivno vplivajo na zmanjševanje onesnaževanja okolja zaradi transporta hrane. Pridelava ekološkega sadja se je pokazala kot primerna iz stališča večje vsebnosti fenolnih snovi v tako pridelanem sadju ob hkratnem manjšem vložku energentov zaradi zmanjšane števila tretiranj in odpravljenih porab sintetičnih škropiv in gnojil.

3.2.f - Rezultati projekta posredno s spodbujanjem uživanja lokalno pridelanega sadja, ki ima ugodne učinke na zdravje, vplivajo na izboljšanje zdravstvenega stanja prebivalcev Slovenije.

3.2.g - Rezultati projekta vplivajo na družbeni razvoj z vplivom na spreminjanje prehranjevalnih navad. Z vzpodbujanjem uživanja lokalno pridelanega sadja, ki ima ugodne učinke na zdravje, spodbujajo spreminjanje nezdravih načinov prehranjevanja s prekomernimi količinami industrijsko predelane, okusu in pogledu všečne a s stališča zdravega načina življenja revne hrane; nezdrav način prehranjevanje predstavlja enega

izmed najpomembnejših družbenih problemov povezanih z nastajanjem kroničnih bolezni "moderna" časa.

3.2.h - Projekt je doprinesel k poznavanju interakcij rastlina-okolje in rastlina-drugi organizmi, saj je sekundarni metabolizem vključen v številne ekološke interakcije. Rezultati z novimi spoznanji o možnih mehanizmih vpliva uživanja jabolka na bolezenske procese v človeškem organizmu predstavljajo doprinos k splošnemu znanju.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Dolgoročno bodo rezultati, poleg tega, da so pomembno doprinesli k novim znanstvenim spoznanjem o ugodnem vplivu jabolka na zdravje, v prvi vrsti dolgoročno spodbujali uživanje zdravega, lokalno pridelanega sadja in v Sloveniji pripomogli k ozaveščanju o zdravem načinu življenja, spreminjanju nezdravih prehranjevalnih navad in pomenu uživanja sadja, predvsem jabolka pri tem. Dolgoročno bodo tako pripomogli k izboljšanju zdravstvenega stanja slovenskega prebivalstva. Posredno bodo zaradi spodbujanja uživanja lokalnega sadja doprinesli dolgoročno tudi k zmanjšanju onesnaževanja okolja zaradi zmanjševanja transporta hrane. Zaradi spodbujanja uživanja lokalnega sadja bodo doprinesli tudi k večji prodaji slovenskega sadja, izboljšanju stanja slovenskega sadjarstva in s tem k razvoju slovenskega podeželja.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- ☒ a) v domačih znanstvenih krogih;
- ☒ b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- ☒ c) pri domačih uporabnikih;
- ☐ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Kmetijsko gozdarska zbornica, ki rezultate naših raziskav že uporablja pri promociji projekta uvajanja sadja v šole in promociji lokalne prodaje slovenskih pridelkov: Salobir Barbara, Veberič Robert. Jabolko na dan drži zdravnika stran. prispevek v glasilu Zelena dolina, ki ga izdaja Kmetijsko gozdarska zbornice Slovenije. Avgudt 2009.

Študentje farmacije, ki se zavedajo, da je za zdrav način življenja pred uporabo zdravil pomembno uživanje zdrave, lokalno pridelane hrane o čemer smo razpravljali na njihovem poletnem kampu v Čatežu julija 2009. Tudi slovenski zdravniki že izražajo interes, da bodo na delovnih mestih s pomočjo rezultatov naših raziskav promovirali uživanje lokalnega sadja svojim bolnikom. Rezultati so bili predstavljeni slovenskim pridelovalcem jabolka, ki so z zanimanjem spremljali rezultate o tehnoloških ukrepih in načinu pridelave (integrirana, ekološka) ter o fenolnih snoveh kot pomembnem pokazatelju kakovosti sadja. Rezultati raziskav bodo vključeni v oblikovanje novih tehnologij ter tržnih pristopov.

3.7. Število diplomantov, magistrrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

V okviru CRP projekta je bilo zastavljenih tudi več diplom in en magisterij, ki so v postopku pisanja oz. tik pred zagovorom in bodo realizirani konec tega oz. v začetku naslednjega leta.

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

Del razultatov o primerjavi med integrirano in ekološko pridelavo je bil predstavljen tudi v obliki predavanja na COST 864 Pome fruit health:

VEBERIČ, Robert, MIKULIČ PETKOVŠEK, Maja, ŠTAMPAR, Franci. Seasonal changes in phenolic compounds in leaves and fruits of scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). 'Adige, Trentino, Italy : COST Action 864 : Combining traditional and advanced strategies for plant protection in pome fruit growing : programme and book of abstracts. [S. l: Commission of the European Communities, 2007], str. [1]. [COBISS.SI-ID 5008761]

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

Rezultati takšnega sodelovanja se kažejo pri oblikovanju skupnih idej in projektov, ki se oblikujejo na podlagi izmenjave rezultatov in izkušenj s tovrstnimi interdisciplinarnimi raziskavami v širšem evropskem prostoru.

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani: <http://www.izum.si/>

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

VEBERIČ Robert, SALOBIR Barbara. Sadje za zdravje ljudi. Rezultati CRP projekta 2006-2009. Predavanje v okviru teme Sadje v prehrani mladostnikov. Sejem Narava - zdravje, Ljubljana, 2. 10. 2008

VEBERIČ, Robert. Pomen fenolnih snovi za rastline in človeka. Predavanje v okviru Lomergarjevih dnevov, Maribor, 12. december 2008.

ŠTAMPAR, Franci, LEŠNIK, Mario, VEBERIČ, Robert, SOLAR, Anita, KORON, Darinka, USENIK, Valentina, HUDINA, Metka, OSTERC, Gregor. Sadjarstvo. 2. dopolnjena izd. Ljubljana: Kmečki glas, 2009. 416 str., ilustr., preglednice. ISBN 978-961-203-342-2. [COBISS.SI-ID 243706368]

Predstavitve medicinskih rezultatov podeželski mladini na 23. državnih in 2. mednarodnih kmečkih igrah 4. julija 2009 v Mislinji "Kupujem slovensko - jem zdravo", študentom farmacije 18. julija 2009 na mednarodnem poletnem taboru (International Pharmaceutical Summer Camp 2009) v Dolenji vasi pri Čatežu, ki je potekal od 17 do 24 julija 2009, poročilo o rezultatih medicinskih raziskav s spodbudo k uživanju sadja in k lokalni prodaji doma pridelanega sadja v glasilu Kmetijsko gozdarske zbornice september 2009.

V pripravi je spletna stran JABOLKO NA DAN, DRŽI ZDRAVNIKA STRAN (v slovenskem in angleškem jeziku) s predstavljenimi vsemi rezultati projekta, ki bo promovirala zdrav način življenja, uživanje lokalnega sadja in povezovala porabnike s pridelovalci sadja v smislu spodbujanja lokalne prodaje in bo povezana s spletnimi stranmi, ki promovirajo zdrav način življenja.

V postopku objave je še več člankov:

Salobir B, Šabovič M, Terčelj M, Prezelj M. Association of antioxidant status with classical risk factors of coronary heart diseases in healthy middle-aged with moderate risk of coronary heart disease. poslano v objavo v Clin Cardiology

Salobir B, Šabovič M, Terčelj M, Prezelj M. Seasonal variation in antioxidant potential in healthy middle-aged men with moderate risk of coronary heart disease. poslano v objavo v Metabolism

Salobir B, Šabovič M, Terčelj M, Prezelj M. Influence of apple consumption on daily antioxidant potential in healthy middle-aged men with moderate risk of coronary heart disease. poslano v objavo Nutr Metab Cardiovasc Res

Salobir B, Šabovič M, Terčelj M, Prezelj M, Veberič R, Štampar F. Influence of apple consumption on seasonal variation in antioxidant potential in healthy middle-aged men with moderate risk of coronary heart disease. poslano v objavo v Nutrition

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

Salobir B, Terčelj M, Ulčar-Kostić S, Bregar U, Prezelj M, Šabovič M. Antioxidant potential in patients with asthma and healthy controls. poslano v objavo v J Asthma.

Salobir B, Terčelj M, Ulčar-Kostić S, Bregar U, Prezelj M, Veberič R, Štampar F, Šabovič M. Influence of apple consumption on antioxidant potential in patients with asthma and healthy controls. poslano v objavo v Eur J Clin Nutr.

Salobir B, Wraber B, Veberič R, Terčelj M, Simčič S, Štampar F, Šabovič M. Influence of apple flavonoids on in vitro activation of peripheral blood mononuclear cells. pripravljeno za objavo

Salobir B, Wraber B, Veberič R, Terčelj M, Simčič S, Štampar F, Šabovič M. Influence of apple flavonoids on in vitro cytokine production of peripheral blood mononuclear cells. pripravljeno za objavo