

# Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu

Monografia naukowa pod redakcją naukową  
Emilii Bernas, Doroty Gałkowskiej, Kingi Topolskiej

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności  
Wydawnictwo Naukowe PTTŻ

Kraków 2023



# **Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu**

Monografia pod redakcją naukową  
Emilii Bernaś, Doroty Gałkowskiej, Kingi Topolskiej

**Polskie Towarzystwo Technologów Żywności  
Wydawnictwo Naukowe PTTŻ**

**Kraków 2023**

## **Recenzenci naukowi**

dr hab. inż. Emilia Bernaś, prof. URK; prof. dr hab. Aleksandra Duda; dr hab. inż. Dorota Gałkowska, prof. URK; dr hab. inż. Dorota Gumul, prof. URK; prof. dr hab. inż. Lesław Juszcak; dr hab. Karen Khachatryan, prof. URK; prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska; dr hab. inż. Marcin Łukasiewicz, prof. URK; prof. dr hab. inż. Władysław Migdał; dr hab. inż. Dorota Najgebauer-Lejko, prof. URK; dr hab. inż. Anna Ptaszek, prof. URK; dr Łukasz Skoczylas, prof. URK; dr hab. inż. Jacek Słupski, prof. URK; dr hab. inż. Bożena Stodolak, prof. URK; prof. dr hab. inż. Krzysztof Surówka; dr hab. Kinga Topolska, prof. URK; prof. dr hab. inż. Mariusz Witczak

## **Opracowanie redakcyjne i korekta**

Dr hab. inż. Emilia Bernaś, prof. URK

Dr hab. inż. Dorota Gałkowska, prof. URK

Dr hab. Kinga Topolska, prof. URK

## **Projekt okładki**

Dr inż. Michał Pancerz

## **Wydawnictwo**

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Wydawnictwo Naukowe PTTŻ

31-149 Kraków, ul. Balicka 122

<http://wydawnictwo.pttz.org>

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2023, Poland

ISBN 978-83-953897-5-7

Publikacja dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Doskonała nauka”; nr projektu DNK/SP/549771/2022, kwota dofinansowania 20 000,00 zł, całkowita wartość projektu 94 040,00 zł.



Za treści zamieszczonych materiałów odpowiadają ich autorzy.

## Spis treści

### **Emilia Bernaś**

Charakterystyka imbiru i kurkumy jako przypraw o właściwościach prozdrowotnych.....6

### **Barbara Borczak, Dominika Kwaśny, Elżbieta Sikora, Joanna Kapusta-Duch, Anna Mróz**

Porównanie zawartości wybranych związków o działaniu przeciwutleniającym oraz azotanów(III) i (V) w ziele rzeżuchy ogrodowej (*Lepidium sativum* L.) i łąkowej (*Cardamine pratensis* L.).....17

### **Aneta Brodziak, Jolanta Król, Joanna Wajs, Tomasz Czernecki**

Wpływ dodatku białka konopnego na właściwości fizykochemiczne i organoleptyczne jogurtów wytworzonych na bazie mleka ekologicznego .....26

### **Łukasz Byczyński, Robert Duliński, Adrian Karbowski**

Porównanie właściwości antyoksydacyjnych oraz poziomu polifenoli ogółem i wolnych aminokwasów w czosnku surowym i czarnym otrzymanym w procesie skróconej fermentacji .....37

### **Iwona Drożdż, Gabriela Ostrowska**

Wpływ ekstraktu z chaga (*Inonotus obliquus*) na wybrane mikroorganizmy patogenne i bakterie kwasu mlekowego w warunkach *in vitro* .....49

### **Magdalena Głowa, Marta Liszka-Skoczylas**

Zawartość polifenoli ogółem i potencjał antyoksydacyjny wybranych ziół leczniczych uprawianych w Polsce .....67

### **Urszula Goik**

Przygotowanie i badanie wybranych właściwości reologicznych hydrożeli alginianowych z dodatkiem miodu .....82

### **Anna Jędrusek-Golińska, Krystyna Szymandera-Buszka, Marzanna Hęś**

Wrażliwość smakowa osób młodych w powiązaniu z częstością spożycia i preferowaniem produktów słodkich i słonych .....95

### **Agnieszka Jędrzejczak, Roman Zielonka, Katarzyna Zając, Elżbieta Wojtowicz,**

### **Krzysztof Przygoński**

Możliwości zastąpienia tradycyjnego kajmaku kremami wegańskimi na bazie napoju grochowego .....113

### **Marta Kaczmarczyk**

Wpływ spożycia kofeiny z różnych źródeł na ilość i jakość snu osób dorosłych – badania ankietowe .....123

### **Joanna Kapusta-Duch, Karolina Dereń, Barbara Borczak, Anna Mroczkowska**

Charakterystyka i sposoby łagodzenia objawów w zespole jelita nadwrażliwego.....140



<b>Joanna Kapusta-Duch, Marta Kotuła, Barbara Borczak, Wioleta Weiss, Dominika Kwaśny</b>	
Najczęściej spotykane zaburzenia odżywiania o podłożu psychicznym i ich potencjalne przyczyny .....	151
<b>Paulina Kęska, Joanna Stadnik, Katarzyna Mazurek, Szymon Czerniak, Patrycja Gazda, Łukasz Siłka</b>	
Wpływ dodatku liofilizowanego mięszu czerwonej pitaji ( <i>Hylocereus undatus</i> ) na stabilność barwy pieczeni wieprzowej .....	164
<b>Aleksandra Kuchar, Sławomir Pietrzyk, Jacek Rożnowski</b>	
Zawartość składników mineralnych w produktach zbożowych dostępnych na polskim rynku .....	176
<b>Joanna B. Kukiela, Małgorzata Tabaszewska, Emilia Bernaś</b>	
Grzyby jako źródło cennych związków bioaktywnych w diecie człowieka i dla przemysłu kosmetycznego .....	186
<b>Jakub Michał Kurek, Anna Gościński, Judyta Cielecka-Piontek, Zbigniew Krejpcio</b>	
Determination of antidiabetic activity of steviol glycosides by evaluation of $\alpha$ -glucosidase inhibition <i>in vitro</i> .....	194
<b>Dominika Kwaśny, Barbara Borczak, Joanna Kapusta-Duch, Joanna Wiktor</b>	
Ocena spożycia suplementów diety wspomagających naturalną odporność organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów zawierających witaminę D <sub>3</sub> .....	205
<b>Zuzanna Małyśzek, Roman Zielonka, Elżbieta Wojtowicz</b>	
Kształtowanie tekstury białka grochowego z wykorzystaniem enzymu sieciującego .....	217
<b>Magdalena Michalczyk</b>	
Wpływ naparów herbat na wzrost wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego ...	228
<b>Oskar Michalski, Anna Konieczna-Molenda</b>	
Zastosowanie $\alpha$ -amylazy immobilizowanej na nośniku polimerowym do hydrolizy skrobi w ryżu i płatkach owsianych .....	243
<b>Beata Paszczyk, Joanna Klepacka, Magdalena Polak-Śliwińska, Elżbieta Tońska</b>	
Skład kwasów tłuszczowych oraz wybrane wskaźniki oceny jakości lipidów w jogurtach naturalnych oraz wzbogaconych .....	255
<b>Millena Ruszkowska, Maja Chaleńska</b>	
Ocena właściwości sorpcyjnych ekstrudatów kukurydzianych wzbogaconych zieloną herbatą matcha .....	268

**Karolina Rybarska, Krzysztof Przygoński**

Wpływ rutyny na tworzenie heterocyklicznych amin aromatycznych w reakcjach  
Maillarda.....280

**Łukasz Skoczyła, Anna Korus, Mateusz Pulka, Magdalena Pulchny**

Wpływ biofortyfikacji i dodatku prozdrowotnych surowców roślinnych na właściwości  
funkcjonalne napojów .....295

**Joanna Sobolewska-Zielińska, Dorota Gałkowska, Natalia Patla, Karolina Gąsior**

Kwiaty jadalne jako dodatek do produktów o charakterze deserów .....304

**Krystyna Szymandera-Buszka, Agata Jankowska, Marzanna Hęć,**

**Anna Jędrusek-Golińska**

Właściwości przeciwutleniające brokułów fortyfikowanych jodem w postaci jodku  
potasu lub jodanu(V) potasu .....317

**Artur Wierzchowski, Artur Bartkowiak**

Recyklowalne papiery barierowe do pakowania żywności z zastosowaniem powłok  
polisacharydowych – porównanie wyników prób laboratoryjnych i przemysłowych.....330

Indeks autorów .....343

# Charakterystyka imbiru i kurkumy jako przypraw o właściwościach prozdrowotnych

Emilia Bernaś

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywienia  
emilia.bernas@urk.edu.pl*

## Streszczenie

Rośliny przyprawowe od wieków zajmują znaczące miejsce w diecie. W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele opracowań podkreślających ich właściwości oraz rolę w utrzymaniu zdrowia człowieka oraz wspomaganiu leczenia chorób przewlekłych niezakaźnych m.in. chorób układu krążenia, czy też układu nerwowego, cukrzycy typu 2 oraz chorób nowotworowych). Ponadto wspomagają trawienie oraz poprawiają apetyt. Ważną rolę wśród roślin przyprawowych odgrywają imbir i kurkuma. Kłącza obu roślin mają szerokie zastosowanie w gastronomii, gdzie stanowią dodatek do potraw, są również wykorzystywane jako dodatki funkcjonalne w przemyśle spożywczym oraz jako środki zapobiegające wielu chorobom. Kurkuma znalazła także zastosowanie jako barwnik do żywności, poprawiający jej wygląd. Skład chemiczny imbiru i kurkumy jest zróżnicowany. Obie rośliny zawierają zarówno składniki odżywcze, jak i nieodżywcze, przy czym właściwości prozdrowotne wynikają przede wszystkim z obecności substancji nieodżywczych, tzw. związków biologicznie czynnych, które wykazują działanie przeciwwirusowe, bakterioobójcze, bakteriostatyczne czy antyoksydacyjne.

**Słowa kluczowe:** przyprawy, skład chemiczny, imbir, kurkuma, bezpieczeństwo stosowania

## 1. Charakterystyka imbiru i kurkumy

Imbir lekarski (*Zingiber officinale* Rosc.) oraz ostrzyż długi tzw. kurkuma (*Curcuma longa* L.) są roślinami tradycyjnie stosowanymi w medycynie oraz kuchni Dalekiego Wschodu. Uprawy tych roślin zlokalizowane są w krajach o ciepłym i wilgotnym klimacie, głównie w Chinach i Indiach, ale w ostatnich latach także w Australii, krajach afrykańskich czy w Peru. Uprawa w innych częściach świata miała wpływ na jakość surowca, w tym także jego walorów organoleptycznych, a co za tym idzie - poziomu olejków eterycznych (Wichtl 2004). Aktualnie najbardziej pożądane jest kłącze imbiru pochodzące z Jamajki, ponieważ cechuje się ono intensywnym aromatem i słodkawym smakiem (Łażewska i in. 2019). Największym producentem i eksporterem imbiru oraz kurkumy są Indie (odpowiednio 35% i 78% światowej produkcji) (Giri i Mohanty 2022). Kurkuma jest w Indiach rośliną bardzo cenioną i wykorzystywaną w tym kraju w wielu rytuałach religijnych. Podobnie jest w Malezji, gdzie kurkumą smaruje się brzuch kobiety po porodzie, aby odstraszyła „złe duchy” (Nair 2019).



Imbir lekarski jest rośliną wieloletnią, która rozwija grube kłącza o jasnobrązowej barwie. Rośnie na wysokość od 0,8 do 1 metra, a część nadziemna charakteryzuje się ciemnymi, lancetowatymi liśćmi, oplatającymi łodygę oraz żółto-fioletowymi kwiatami, które nie zawiązują się w odmianach uprawnych. Kurkuma, podobnie jak imbir, jest także rośliną wieloletnią, jednoliścienną, o szerokich, eliptycznych liściach. Zaliczana jest ona do kome-linidów, czyli roślin o właściwości fluorescencyjnych. Kurkuma rozwija bulwiaste kłącza w kolorze pomarańczowożółtym (Aleem i in. 2020, Sais de Cos i Perez-Urria Carril 2014).

Celem pracy było scharakteryzowanie składu chemicznego, właściwości leczniczych i prozdrowotnych imbiru oraz kurkumy, a także w zwrócenie uwagi na ograniczenia związane ze spożywaniem tych roślin.

## 2. Skład chemiczny

Zarówno imbir, jak i kurkuma występują w obrocie handlowym w postaci świeżej (całych kłączy), suszu lub suplementów diety. Obie rośliny są źródłem cennych składników prozdrowotnych, które wykazują korzystne oddziaływanie na organizm człowieka (Aleem i in. 2020, Srinivasan 2017). W kłączu obu roślin przeważają węglowodany ogółem, w tym głównie błonnik pokarmowy. Białko stanowi około 6-10% suchej masy, przy czym jest go więcej w kurkumie niż w imbirze. Obie rośliny są dość dobrym źródłem składników mineralnych, szczególnie zasadowotwórczych. Wśród nich w kłączu obu roślin dominuje potas, przy czym jest go 3-krotnie więcej w kurkumie niż w imbirze. Na uwagę zasługuje także dość wysoka zawartość magnezu w imbirze oraz żelaza i wapnia w kurkumie (tab. 1). W przypadku imbiru jednymi z najważniejszych związków bioaktywnych są związki lotne wchodzące w skład olejku eterycznego oraz gingerole, przy czym istnieje znaczna zmienność ich składu i zawartości, w zależności od pochodzenia geograficznego, warunków uprawy, procesu suszenia i składowania rośliny (El-Ghorab i in. 2010, Zhang i in. 2021). Z kolei w kłączu kurkumy, wśród związków lotnych dominują ar-turmeron, turmeron, zingiberen i curlon, a związki nielotne to przede wszystkim barwniki i zaliczane do polifenoli kurkuminoidy (7-10%), głównie kurkumina I (diferuloilmetan), kurkumina II (demetoksykurkumina) i kurkumina III (bis-demetoksykurkumina). Kurkuminoidy zaliczane są do związków dość niestabilnych, bowiem w wyniku obróbki cieplnej kurkumy obserwuje się ich straty rzędu 30-50%, szczególnie podczas stosowania podwyższonego ciśnienia. Najmniej stabilna jest kurkumina I, a najbardziej stabilna jest kurkumina III (Yadav i in. 2013).

**Tabela 1.** Skład chemiczny suszonego kłącza imbiru i kurkumy, w 100 g

Składnik	Imbir	Kurkuma
Woda (g)	8,6	11,2-16,5
Węglowodany ogółem (g)	38,3	67,9-69,9
Popiół (g)	1,7-3,8	6,9-14,0
Błonnik pokarmowy (g)	2,9-5,6	4,6-8,1
Białko (g)	6,0-8,8	9,4-9,7
Tłuszcz (g)	2,2-5,3	2,7-10,0
Miedź (mg)	0,6	*
Potas (mg)	410,0	1124,0-1482,7
Cynk (mg)	0,3-0,9	*
Żelazo (mg)	8,0	37,5-86,8
Mangan (mg)	7,3-9,1	*
Wapń (mg)	15,8-88,4	45,0
Magnez (mg)	45,0	*

Objaśnienia: \*brak danych; źródła: Agnihotri i in. 2021, Ikpeama i in. 2014, Kulczyński i Gramza-Michałowska 2016, Kumari i in. 2022, Prakash 2010, Sais de Cos i Perez-Urria Carril 2014, Shahid i Hussain 2012

### 3. Właściwości lecznicze i prozdrowotne

Historyczne źródła podają, że imbir stosowali już starożytni Grecy i Rzymianie po obfitych ucztach, w celu zapobiegania nudnościom. Do Europy imbir trafił jako jeden z pierwszych tego typu surowców ze Wschodu, przywieźli go kupcy podróżujący „szlakami korzennymi”. Już w XI wieku pojawiły się pierwsze wzmianki o korzystnym wpływie imbiru na zdrowie. Imbir był także stosowany do aromatyzowania piwa, gorących trunków, wypieków czy doprawiania potraw (Glibowski i in. 2017, Łazewska i in. 2019). Działanie to obejmuje szereg właściwości, począwszy od łagodzenia dolegliwości ze strony układu pokarmowego, przez korzystne działanie w stanach zapalnych i silne właściwości przeciwutleniające, aż do potencjalnego wspomagania leczenia chorób neurodegeneracyjnych. Roślina ta była stosowana zarówno w medycynie ajurwedyjskiej, jak i chińskiej. Badania naukowe prowadzone na przestrzeni lat udowodniły skuteczność składników aktywnych rośliny w walce z różnymi dolegliwościami, m.in. reumatoidalnym zapaleniem stawów, bólami miesiączkowymi, nudnościami, podwyższonym ciśnieniem krwi oraz cukrzycą (Nuttakor i in. 2020). W przypadku imbiru surowcem wykorzystywanym w celach leczniczych jest wysuszone kłącze lub olejek eteryczny, zawierający w głównej mierze terpenoidy (m.in.  $\alpha$ -zingiberen, zingiberol,  $\beta$ -seskwifelandren,  $\beta$ -bisabolen) oraz w mniejszej ilości monoterpeny (m.in. kamfen,  $\beta$ -felandren, geraniol, cyneol, kurkumen, cytral, bineol, terpineol). W olejku eterycznym imbiru pochodzącego z Australii obecne są przede wszystkim monoterpeny, m.in. cytral. Z kolei imbir japoński, powszechnie wykorzystywany w medycynie chińskiej, zawiera diterpeny, natomiast olejek destylowany z imbiru wietnamskiego jest bogaty głównie w utlenione monoterpeny (Nair i in. 2019). Zawartość olejku eterycznego w

kłączu wynosi 1-4%. Wymienione związki nadają imbirowi charakterystyczny aromat i smak. Z kolei ostry smak tej rośliny jest wynikiem obecności głównie gingeroli (6-gingerol – 9,7 mg/g) i shogaoli (6-shogal – 2,2 mg/g), które mają silne działanie antyoksydacyjne (Chen i in. 2008). Gingerole dominują w świeżym imbirze, natomiast shoagole, których właściwości antyoksydacyjne są silniejsze, przeważają w suszu, stąd wyższą aktywność przeciwutleniającą wykazuje susz niż świeże kłącze (Li i in. 2016, Yang i in. 2014). Imbir ma także działanie antybakteryjne, bowiem olejek eteryczny w nim zawarty hamuje aktywność *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* (Wang i in. 2020).

Kurkuma ma wiele tradycyjnych zastosowań, począwszy od medycyny ajurwedyjskiej, gdzie jest wykorzystywana przede wszystkim w leczeniu stanów zapalnych, poprzez tradycyjną medycynę chińską, w której jest stosowana jako środek pobudzający, wiatropędny, wzmacniający serce, czy moczopędny. Powszechnie znane jest antyseptyczne działanie kurkumy, co zostało wykorzystane przez jedną ze światowych firm do produkcji bandaży z dodatkiem na rynek USA (Izui i in. 2016). Za właściwości prozdrowotne kurkumy odpowiadają w dużej mierze kurkuminoidy, które ponadto charakteryzują się żółtą barwą i w związku z tym są często używane do barwienia żywności. Kurkumina, zaliczana do tej grupy związków, jest stosowana w przemyśle farmaceutycznym do leczenia różnego rodzaju stanów patologicznych, bowiem wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwreumatyczne, przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwcukrzycowe (Bomdyał i in. 2017, Den Hartogh i in. 2020, Edwards i in. 2017, Sundar i in. 2018). Ponadto wykazano, że ma ona działanie ochronne na wątrobę, serce, nerki i układ nerwowy (Lachowicz i in. 2020). Jak podają Agnihotri i in. (2021), istotny wpływ na zawartość składników bioaktywnych w kurkumie ma pochodzenie rośliny, gdyż zawartość kurkuminy w suszu pochodzącym z różnych regionów Indii wynosiła od 2,7 do 5,3 g/100 g produktu. Oprócz kurkuminoidów właściwości prozdrowotne kurkumy przypisuje się także zawartym w niej olejkom eterycznym (2-4%). W przypadku kurkumy za zapach i ostry smak odpowiada eukaliptol, ale w olejku eterycznym tej rośliny przeważa tumeron (Naz i in. 2010). Odmienne niż w przypadku imbiru, związki fenolowe (głównie tumerony) w kurkumie ulegają degradacji podczas procesu suszenia i w związku z tym surowiec świeży jest bardziej pożądanym niż suszony. Ponadto kurkumina jest wrażliwa na światło, niestabilna przy pH > 7 i – podobnie jak wiele innych naturalnych substancji przeciwutleniających – ulega degradacji oksydacyjnej (Sharifi-Rad i in. 2020).

Kurkuma poprawia smak potraw oraz wpływa korzystnie na metabolizm (Den Hartogh i in. 2020). Ponadto pomaga ona regulować skład mikroflory jelitowej i jest szczególnie zalecana do stosowania po kuracji antybiotykowej, zmniejszając w ten sposób ryzyko zapalenia błony śluzowej żołądka i powstania wrzodów jelit. Kurkuma obniża także poziom cukru we krwi, wspomaga leczenie reumatoidalnego zapalenia stawów, choroby zwyrodnieniowej stawów, urazów, wspomaga pracę wątroby i pęcherzyka żółciowego (Nair 2019). Zawarta w kurkumie kurkumina ma szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, w tym m.in. przeciwko



*Staphylococcus aureus* czy *Escherichia coli*. Ponadto wykazuje właściwości hamujące rozwój *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Trichomonas vaginalis*, *Helicobacter pylori*, *Candida albicans* oraz *Paracoccidioides brasiliensis* (Bomdyał i in. 2017, Huang i in. 2016, Izui i in. 2016). W przypadku *Porphyromonas gingivalis* oraz *Prevotella intermedia* wzrost bakterii został niemal całkowicie zahamowany przy bardzo niskich stężeniach kurkuminy, a stężenie kurkuminy wynoszące 20 µg/ml hamowało powstawanie biofilmu *P. gingivalis* o m.in. 80% (Izui i in. 2016).

Zarówno imbir, jak i kurkuma mają potencjalne działanie antynowotworowe. W przypadku imbiru zwraca się uwagę na hamowanie m.in. proliferacji komórek raka prostaty czy zapobieganie białaczce (Saha i in. 2014, Wei i in. 2005). Odpowiedzialne są za to głównie tzw. „ostre” składniki, zwłaszcza 6-gingerol i 10-gingerol, a w przypadku podawania liści tej rośliny flawonoidy i związki fenolowe, takie jak kwercetyna, rutyna, epikatechina i kwas salicylowy (Zhang i in. 2021). Z kolei w odniesieniu do kurkumy, właściwości antynowotworowe sprowadzają się do zapobiegania przerzutom w różnych modelach zwierzęcych raka płuca, wątroby, żołądka, okrężnicy, piersi i przełyku, szczególnie podczas stosowania chemioterapii cisplatyną i oksaliplatyną (Kania i Baraniak 2015). W przypadku kurkumy za właściwości antynowotworowe odpowiada w dużej mierze kurkumina, przy czym głównym problemem związanym z jej wykorzystaniem u ludzi jest jej niewielka wchłanianiałość z przewodu pokarmowego, słaba rozpuszczalność w płynach ustrojowych oraz niska biodostępność. Alternatywą mogłaby być nanokurkumina (Basniwał i in. 2014).

Wiele chorób neurodegeneracyjnych związanych jest z występowaniem stanu zapalnego w ośrodkowym układzie nerwowym. Do chorób tych zalicza się chorobę Alzheimera, której towarzyszą zaniki pamięci, zmiany typowego zachowania czy problemy związane z funkcjami poznawczymi. W ostatnim czasie wykazano, że stosowanie imbiru może znacząco zwiększać funkcje poznawcze zarówno w przebiegu chorób neurologicznych, jak i w zdrowym mózgu (Lim i in. 2014). Stosowanie ekstraktu z imbiru w odniesieniu do zwierząt doświadczalnych istotnie poprawiło ich zdolność do rozpoznawania nieznanymi przedmiotów, a w konsekwencji pamięć i proces uczenia się (Łażewska i in. 2019).

Imbir i jego ekstrakty mogą mieć korzystny wpływ na układ pokarmowy człowieka, ponieważ badania przeprowadzone na zwierzętach doświadczalnych dowiodły, że zastosowanie ekstraktu z tej rośliny zapobiegało wymiotom u szczurów doświadczalnych podczas chemioterapii z wykorzystaniem cisplatyny (Sharma i Gupta 1998). W przypadku kobiet ciężarnych stosowanie preparatów z imbirem ograniczało nudności i wymioty (Fischer-Rasmussen i in. 1991). Niektóre badania naukowe sugerują także potencjał imbiru w zapobieganiu uszkodzeniom okrężnicy wywołanym przez niektóre czynniki chemiczne (Zhang i in. 2021).

Spożywanie diety zawierającej cholesterol zwiększa poziom cholesterolu o małej gęstości (LDL) w organizmie, zwiększając ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Badania naukowe na zwierzętach wykazały, że wprowadzenie do wysokocholesterolowej diety szczurów imbiru spowodowało obniżenie cholesterolu całkowitego (TC), trójglicerydów,

cholesterolu LDL w osoczu (Akinyemi i in. 2014). Imbir ma także ochronne działanie na mięsień sercowy i zapobiega chorobie niedokrwiennej (Zhang i in. 2021). Imbir może również wspomagać walkę z otyłością i cukrzycą (Saravanan i in. 2014, Yu i in. 2017).

#### **4. Wykorzystanie imbiru i kurkumy w produkcji żywności, kosmetologii i gospodarstwie domowym**

Imbir jest rośliną wykorzystywaną jako składnik napojów (np. piwa), zup, dżemów, pieczywa, wyrobów cukierniczych, jest także składnikiem przyprawy curry. Na półkach sklepowych spotkać można kłącza imbiru w postaci świeżej oraz w formie konserwy (pasta, plastry), herbaty, cukierków czy suszonego proszku. Imbir może być stosowany jako składnik zup, szczególnie rosółu, oraz różnego rodzaju potraw mięsnych, w celu poprawy ich smaku oraz usunięcia rybiego zapachu i odczucia „tłustości” (Duan i in. 2021). Jako dodatek do produktów z kurczaka może być stosowany również sfermentowany sos imbirowy, który zwiększa ich stabilność mikrobiologiczną (Muhialdin i in. 2020). Starte kłącze imbiru podkreśla aromat potraw i nadaje im charakterystycznego cierpkiego posmaku oraz poprawia stabilność fazy tłuszczowej. Ponadto, dodatek tej przyprawy zwiększa soczystości i kruchość burgerów z mięsa wielbłąda (Abdel-Naeem i Mohamed 2016, Saranya i in. 2016).

Z kolei kurkumę wykorzystuje się jako składnik sosów, mieszanek musztardowych i pikli. Herbata z kurkumą jest popularna w niektórych obszarach Japonii, szczególnie na Okinawie. Kurkuma stosowana jest dość często do barwienia żywności, m.in. produktów mlecznych, napojów, płatków zbożowych, słodczy, lodów i pieczywa. Na przykład w USA kurkuma jest dodawana do musztardy, pikli, przysmaku „chow-chow”, masła, sera i mięsa, a w Wielkiej Brytanii (ze względu na dużą populację imigrantów z Indii) służy do barwienia dań z ryżu i dań mięsnych. Kurkuma może być także wykorzystywana do marynowania mięsa, przy czym ze względów zdrowotnych należy ją łączyć z pieprzem, ponieważ kurkumina zwiększa biodostępność zawartej w pieprzu piperyny (Aggarwal i in. 2005). Kurkuma charakteryzuje się słodko-ostrym smakiem podobnym do imbiru, ale ze względu na to, iż jest nieco delikatniejsza, można ją stosować nawet w dużych ilościach. Dodatek kurkumy do marynaty przeciwdziała m.in. utlenianiu lipidów w kiełbasach jagnięcych i drobiowych (Sagan 2022). Kurkuma jest również tradycyjnie używana do pielęgnacji skóry. Na przykład pastę z kurkumy nakłada się na skórę twarzy jako maskę, aby poprawić jej wygląd i pomóc w rozjaśnieniu przebarwień. Kurkuma jest stosowana podczas różnych indyjskich ceremonii np. podczas ślubu czy innych ceremonii religijnych. Olejek z kurkumy jest także skutecznym środkiem odstraszającym komary (Debjit Bhowmik i in. 2009).

Wykorzystując przyprawy w kuchni należy zwrócić uwagę na temperaturę, w jakiej są przygotowywane potrawy z ich udziałem. Wykazano, że imbir jest trwały termicznie jedynie w temperaturze gotowania, natomiast smażenia oraz pieczenia stopniowo traci swoją stabilność termiczną, co powoduje, że powinien być dodawany dopiero pod koniec obróbki cieplnej żywności (Wieczorek i in. 2011).

## 5. Bezpieczeństwo stosowania

Stosowanie różnych form imbiru w dawkach uważanych za lecznicze jest z reguły bezpieczne, bowiem podczas przeprowadzonych badań klinicznych obserwowano głównie zaburzenia ze strony układu pokarmowego o rzadkim i niewielkim nasileniu. Niemniej jednak przy zastosowaniu suszu w dawce 6 g/dobę zdarzały się przypadki powstawania wrzodów żołądka. Przyczyną tej choroby było prawdopodobnie złuszczenie się komórek nabłonkowych w żołądku (Desai i in. 1990). Spożywanie zbyt dużych ilości tej rośliny może powodować także depresję i arytmie. Przeciwwskazaniem do stosowania imbiru, ze względu na jego działanie żółciopędne, jest występowanie kamicy żółciowej (Gruenwald i in. 2004). Z uwagi na możliwość zmniejszenia krzepliwości krwi, imbir nie powinien być stosowany przez ludzi o słabej krzepliwości krwi lub zażywających leki przeciwkoagulacyjne (Shadrack i in. 2019). Ze względu na działanie przeciwcukrzycowe imbiru, zaleca się również zachowanie szczególnej ostrożności przy stosowaniu leków przez diabetyków (Łażewska i in. 2019). Z kolei kurkuma jako przyprawa jest uważana za bezpieczną, a przeprowadzone badania na zwierzętach i z udziałem ludzi nie wykazały jej działania toksycznego (Kumari i in. 2022). Niemniej jednak Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności (JECFA) określił dopuszczalne dzienne spożycie kurkuminy, głównego składnika kurkumy, na poziomie do 3 mg/kg masy ciała/dobę, chociaż wiele krótkoterminowych badań wskazuje, że kurkumina nie działa toksycznie w dawce do 8 g na dzień. Śmiertelna dawka kurkuminy w przypadku myszy i szczurów wynosi, odpowiednio, 2-10 i 5-10 g/kg masy ciała/dzień (Kania i Baraniak 2015).

## 6. Podsumowanie

Zarówno imbir, jak i kurkuma zaliczane są do jednych z najbardziej znanych i cenionych roślin przyprawowych na świecie, które oprócz celów spożywczych znalazły także zastosowanie w farmacji i kosmetologii, ale także w tradycyjnej medycynie ajurwedyjskiej oraz w wielu obrzędach religijnych. Obie rośliny mają m.in. działanie antybakteryjne, przeciwzapalne czy antyoksydacyjne, przy czym właściwości prozdrowotne zależą w dużej mierze od miejsca pochodzenia i odmiany rośliny, formy w jakiej jest stosowana oraz temperatury obróbki termicznej, jakiej jest poddawana. W związku z tym najlepiej potrawy z dodatkiem tych przypraw poddawać gotowaniu, a same przyprawy dodawać pod koniec procesu technologicznego.

## Literatura

1. Abdel-Naeem H. H., Mohamed H. M. (2016). Improving the physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. *Meat Science*, 118, 52-60.
2. Aggarwal B. B., Kumar A., Aggarwal M. S., Shishodia S. (2005). Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): A spice for all seasons. In: Preuss H. (Ed.), *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*. Boca Raton: CRC Press, pp. 349-387.



3. Agnihotri V., Rana S., Anjum S. (2021). Comparative analysis of nutraceutical potential of turmeric grown in different areas of Almora, Uttarakhand. *Journal of Spices & Aromatic Crops*, 30(2), 163-174.
4. Akinyemi A. J., Ademiluyi A. O., Oboh G. (2014). Inhibition of angiotensin-1-converting enzyme activity by two varieties of ginger (*Zingiber officinale*) in rats fed a high cholesterol diet. *Journal of Medicinal Food*, 17(3), 317-323.
5. Aleem M., Khan M. I., Shakshaz F. A., Akbari N., Anwar D. (2020). Botany, phytochemistry and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*): A review. *International Journal of Herbal Medicine*, 8(6), 36-49.
6. Basniwal R. K., Khosla R., Jain N. (2014). Improving the anticancer activity of curcumin using nanocurcumin dispersion in water. *Nutrition and Cancer*, 66(6), 1015-1022.
7. Bomdyal R. S., Shah M. U., Doshi Y. S., Shah V. A., Khirade S. P. (2017). Antibacterial activity of curcumin (turmeric) against periopathogens-An in vitro evaluation. *Journal of Advanced Clinical and Research Insights*, 4(6), 175-180.
8. Chen I. N., Chang C. C., Ng C. C., Wang C. Y., Shyu Y. T., Chang T. L. (2008) Antioxidant and antimicrobial activity of *Zingiberaceae* plants in Taiwan. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63, 15-20.
9. Debjit Bhowmik C., Kumar K. S., Chandira M., Jayakar, B. (2009). Turmeric: a herbal and traditional medicine. *Archives of Applied Science Research*, 1(2), 86-108.
10. De Cos P. S., Pérez-Urria E. (2014). *Cúrcuma (Curcuma longa L.)*. *Reduca Biologia*, 7(2), 84-99.
11. Den Hartogh D. J., Gabriel A., Tsiani E. (2020). Antidiabetic Properties of Curcumin I: Evidence from in vitro studies. *Nutrients*, 12(1), 118.
12. Desai H. G., Kalro R. H., Choksi A. P. (1990). Effect of ginger and garlic on DNA content of gastric aspirate. *Indian Journal of Medical Research*, 92, 139-141.
13. Duan W., Liang L., Huang Y., Zhang Y., Sun B., Li L. (2021). Effect of ginger on chemical composition, physical and sensory characteristics of chicken soup. *Foods*, 10(7), 1456.
14. El-Ghorab A. H., Nauman M., Anjum F. M., Hussain S., Nadeem M. (2010). A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8231-8237.
15. Edwards R. L., Luis P. B., Varuzza P. V., Joseph A. I., Presley S. H., Chaturvedi R., Schneider C. (2017). The anti-inflammatory activity of curcumin is mediated by its oxidative metabolites. *Journal of Biological Chemistry*, 292(52), 21243-21252.
16. Fischer-Rasmussen W., Kjar S.K., Dahl C., Asping U. (1991). Ginger treatment of hyperemesis gravidarum. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 38(1), 19-24.
17. Giri N. C., Mohanty R. C. (2022). Traditional versus underneath farming of turmeric and ginger in Odisha, India. *International Journal of Agricultural & Statistical Sciences*, 18(1), 189-195.

18. Glibowski P., Długołęcka A., Grdeń A., Toczek K. (2017). Właściwości prozdrowotne imbiru. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 50(2), 115-121.
19. Gruenwald J., Brendler T., Jaenicke C. (2004). *PDR for herbal medicines*, 3<sup>rd</sup> Ed. Medical Economics Company, New Jersey, pp. 339-342.
20. Huang L. L., Zhang J., Song T. Z., Yuan L. Y., Zhou J. J., Yin H. L., He T., Gao W., Sun Y., Hu X., Huang H. (2016). Antifungal curcumin promotes chitin accumulation associated with decreased virulence of *Sporothrix schenckii*. *International Immunopharmacology*, 34, 263-270.
21. Ikpeama A., Onwuka G. I., Nwankwo C. (2014). Nutritional composition of Tumeric (*Curcuma longa*) and its antimicrobial properties. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 5(10), 1085-1089.
22. Izui S., Sekine S., Maeda K., Kuboniwa M., Takada A., Amano A., Nagata H. (2016). Antibacterial activity of curcumin against periodontopathic bacteria. *Journal of Periodontology*, 87(1), 83-90.
23. Jithan A., Madhavi K., Madhavi M., Prabhakar K. (2011). Preparation and characterization of albumin nanoparticles encapsulating curcumin intended for the treatment of breast cancer. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 1, 119-125.
24. Kania M., Baraniak J. (2015). Właściwości lecznicze roślin przyprawowych na przykładzie ostryżu długiego. *Postępy Fitoterapii*, 16(2), 102-106.
25. Kapoor V., Aggarwal S., Das S. N. (2016). 6-Gingerol mediates its antitumor activities in human oral and cervical cancer cell lines through apoptosis and cell cycle arrest. *Phytotherapy Research*, 30(4), 588-595.
26. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A. (2016). Znaczenie żywieniowe imbiru. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 49(1), 57-63.
27. Kumari A., Prasad C., Kumar R. (2022). Biochemical studies in different varieties of turmeric (*Curcuma longa* L.). *The Pharma Innovation Journal*, 11(1), 1639-1645.
28. Lachowicz M., Stańczak A., Kołodziejczyk M. (2020). Kurkumina – naturalny polifenol o wielu właściwościach - rozwiązania technologiczne wspomagające farmakoterapię. *Farmacja Polska*, 76, 603-610.
29. Li Y., Hong Y., Han Y., Wang Y., Xia, L. (2016). Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. *Journal of Chromatography B*, 1011, 223-232.
30. Lim S. N., Moon M., Oh H., Kim H. G., Kim S. Y., Oh M. S. (2014). Ginger improves cognitive function via NGF-induced ERK/CREB activation in the hippocampus of the mouse. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25, 1058.
31. Łażewska D., Miętkiewska K., Studzińska-Sroka E. (2019). Imbir lekarski – roślina o właściwościach neuroochronnych. *Postępy Fitoterapii*, 20(4), 268-276.
32. Muhialdin B., Kadum H., Fathallah S., Hussin A. S. M. (2020). Metabolomics profiling and antibacterial activity of fermented ginger paste extends the shelf life of chicken meat. *LWT*, 132, 109897.

33. Nair K.P. (2019). Turmeric (*Curcuma Longa* L.) and ginger (*Zingiber Officinale* Rosc.) – World's invaluable medicinal spices: the agronomy and economy of turmeric and ginger. Springer International Publishing, pp. 271-283.
34. Naz S., Ilyas S., Parveen Z., Javed S. (2010). Chemical analysis of essential oils from turmeric (*Curcuma longa*) rhizome through GC-MS. *Asian Journal of Chemistry*, 22(4), 3153-3158.
35. Nutakor C., Essiedu J. A., Adadi P., Kanwugu O. N. (2020). Ginger beer: An overview of health benefits and recent developments. *Fermentation*, 6(4), 102.
36. Prakash J. (2010). Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(24), 2674-2679.
37. Sagan A. (2022). Fitozwiązki – ważne składniki przypraw i ziół do marynowania mięs. *Ogólnopolski Informator Masarski*, 30, 3.
38. Saha A., Blando J., Silver E., Beltran L., Sessler J., DiGiovanni J. (2014). 6-Shogaol from dried ginger inhibits growth of prostate cancer cells both in vitro and in vivo through inhibition of STAT3 and NF-κB signaling. *Cancer Prevention Research*, 7(6), 627-638.
39. Saranya S., Santhi D., Kalaikannan A. (2016). Ginger as a tenderizing agent for tough meats: A review. *Journal of Livestock Science*, 7, 54-61.
40. Saravanan G., Ponmurugan P., Deepa M. A., Senthilkumar B. (2014). Anti-obesity action of gingerol: Effect on lipid profile, insulin, leptin, amylase and lipase in male obese rats induced by a high-fat diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), 2972–2977.
41. Shadrack K., Faraj A., Alex M. K., Kenneth, N. (2019). Anti-thrombotic effect of *Zingiber officinale* (ginger) in Sprague Dawley rats. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 7(9), 3239.
42. Hussain F. (2012). Chemical Composition and Mineral Contents of *Zingiber officinale* and *Alpinia allughas* (Zingiberaceae) Rhizomes. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 2, 101-104.
43. Sharifi-Rad J., Rayess Y. E., Rizk A. A., Sadaka C., Zgheib R., Zam W., Sestito S., Rapposelli S., Neffe-Skocińska K., Zielińska D., Salehi B., Setzer W. N., Dosoky N. S., Taheri Y., El Beyrouthy M., Martorell M., Ostrander E., Suleria H.A.R., Cho W. C., Maroyi A., Martins N. (2020). Turmeric and its major compound curcumin on health: bioactive effects and safety profiles for food, pharmaceutical, biotechnological and medicinal applications. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1021.
44. Sharma S. S., Gupta Y. K. (1998). Reversal of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats by ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Ethnopharmacology*, 62, 49-55.
45. Srinivasan K. (2017). Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *PharmaNutrition*, 5(1), 18-28.
46. Sundar D. K. S., Houreld N. N., Abrahamse H. (2018). Therapeutic potential and recent advances of curcumin in the treatment of aging-associated diseases. *Molecules*, 23(4), 835.



47. Wang X., Shen Y., Thakur K., Han J., Zhang J. G., Hu F., Wei Z. J. (2020). Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(17), 3955.
48. Wei Q. Y., Ma J. P., Cai Y. J., Yang L., Liu Z. L. (2005). Cytotoxic and apoptotic activities of diarylheptanoids and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 177–184.
49. Wiczorek D., Wybieralska K., Babs A. (2011). Stabilność termiczna wybranych przypraw. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 92(4), 894–897.
50. Wichtl M. (2004). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientific basis*. CRC Press, Boca Raton.
51. Yadav D., Yadav S.K., Khar R. K., Mujeeb M., Akhtar M. (2013). Turmeric (*Curcuma longa* L.): A promising spice for phytochemical and pharmacological activities. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 7(2), 85.
52. Yang J., Zhang W., Du L., Wu H., Guo J. (2014). Comparative antioxidant properties of some gingerols and shogaols, and the relationship of their contents with the antioxidant potencies of fresh and dried ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16(5), 1063–1072.
53. Yu L. Y., Shi W. L., Xin-Gui G. (2017). Cardio-protective role of gingerol along with prominent anti-diabetic cardiomyopathy action in a streptozotocin-induced diabetes mellitus rat model. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19(3), 469–475.
54. Zhang M., Zhao R., Wang D., Wang L., Zhang Q., Wei S., Lu F., Peng W., Wu C. (2021). Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytotherapy Research*, 35(2), 711–742.

## **Characteristics of ginger and turmeric as spices with health-promoting properties**

### **Abstract**

Spice plants have been an important part of the human diet for centuries. The scientific literature emphasizes their properties and role in maintaining human health and supporting the treatment of lifestyle diseases, including: diseases of the circulatory system, nervous system disorders, type 2 diabetes and cancer, as well as supporting digestion and improving appetite. Ginger and turmeric play an important role among spice plants. The rhizomes of both plants are widely used in gastronomy as flavourings, as functional additives in the food industry and in prevention of many diseases. In addition, turmeric can be used as a food colorant to improve appearance. The chemical composition of ginger and turmeric varies. Both plants contain nutritive and non-nutritive constituents, and the health-promoting properties result primarily from the presence of non-nutritive substances, the so-called biologically active compounds that have antiviral, bacteriostatic and antioxidant effects.

## Porównanie zawartości wybranych związków o działaniu przeciwutleniającym oraz azotanów(III) i (V) w ziele rzeżuchy ogrodowej (*Lepidium sativum* L.) i łąkowej (*Cardamine pratensis* L.)

Barbara Borczak, Dominika Kwaśny\*, Elżbieta Sikora, Joanna Kapusta-Duch,  
Anna Mróz

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

\*Autor korespondencyjny: dominika.kwasny@student.urk.edu.pl

### Streszczenie

Wielu osobom uprawa rzeżuchy kojarzy się jedynie z okresem Wielkanocy. Roślina ta jest mało rozpowszechniona w codziennej diecie, ale ze względu na zawartość cennych składników odżywczych, łatwość uprawy oraz dostępność przez cały rok przy minimalnych kosztach jest ona warta uwagi. Celem pracy było porównanie rzeżuchy ogrodowej i łąkowej pod względem zawartości wybranych związków o działaniu przeciwutleniającym oraz azotanów(III) i (V). W tym celu w rzeżuchach oznaczono zawartości witaminy C, azotanów(V) i azotanów(III) oraz polifenoli ogółem. Na podstawie uzyskanych stwierdzono, że w porównaniu do popularnych zielonych warzyw, zarówno rzeżucha ogrodowa, jak i łąkowa zawierały wyższą lub zbliżoną ilość badanych składników i w związku z tym mogą stanowić element codziennej diety. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy można traktować jako przesłankę do prowadzenia dalszych, poszerzonych badań nad właściwościami prozdrowotnymi rzeżuchy ogrodowej i łąkowej oraz wpływem tych roślin na zdrowie człowieka.

**Słowa kluczowe:** rzeżucha ogrodowa, rzeżucha łąkowa, *Lepidium sativum*, *Cardamine pratensis*, pieprzycia siewna

### 1. Wprowadzenie

W Polsce, w okresie zimowym warzywa dostępne na rynku pochodzą głównie z przechowywanych w warunkach chłodniczych lub zamrażalniczych, z uprawy w szklarniach bądź z importu. Ostatnie tygodnie zimy i początek wiosny to czas, gdy przechowywane w chłodniach warzywa stają się mniej smaczne i mają mniejszą zawartość niektórych składników odżywczych. Także owoce dostępne w sklepach są często przechowywane przez kilka miesięcy lub zostały zerwane w stanie niedojrzałym oraz transportowane tysiące kilometrów do Europy. Tego rodzaju warzywa i owoce są także czasami poddawane działaniu różnych substancji chemicznych mających na celu zabezpieczenie ich przed zepsuciem. W związku z tym dobrym rozwiązaniem może okazać się uprawa niektórych roślin w warunkach domowych, np. rzeżuchy ogrodowej (*Lepidium sativum* L.). W Polsce takie produkty są spożywane przez stosunkowo niewielką grupę konsumentów, często stosujących

dietę wegetariańską lub ubogokaloryczną oraz osoby zainteresowane problematyką właściwego odżywiania. Warto zatem zwrócić uwagę na szerszą popularyzację tej rośliny.

Rzeżucha ogrodowa to potoczna nazwa pieprzycy siewnej, przy czym prawidłowa nazwa „rzeżucha” odnosi się do roślin z rodzaju – *Cardamine* L., z rodziny kapustowatych. Rodzaj *Cardamine* obejmuje w Polsce dziewięć gatunków dzikich roślin jednorocznych lub bylin rosnących na wilgotnych łąkach, w zaroślach i mokrych lasach. Jednym z nich jest rzeżucha łąkowa (*Cardamine pratensis* L.). Roślina ta rozwija się wczesną wiosną, a zakwita już w kwietniu, nadając łąkom białego koloru i kwitnie do czerwca. Po skoszeniu odrasta dość słabo. Występuje na wilgotnych lub mokrych łąkach i pastwiskach, na luźnych glebach oraz niskich torfowiskach. Pędy rzeżuchy osiągają wysokość od 15 cm do 30 cm, a nawet 60 cm. Łodyga jest wzniesiona, wewnątrz pusta, naga lub dołem lekko owłosiona. Liście są pierzaste, natomiast dolne liście zebrane są w różyczkę, długoogonkowe i delikatne. Ma krótkie, ciemnobrązowe kłącze i dość liczne korzenie. Kwiaty promieniste i czterokrotne, zebrane w luźne grona. Płatki korony odwrotnie jajowate i lilowe. Kwiaty zazwyczaj są koloru białego lub bladorożowego. Rzeżucha łąkowa rosnąc na łąkach jest często niszczone przez wczesne koszenie, a także nadmierne odwodnienie podczas suszy. Rośliny można przenieść lub wysiać na wilgotne stanowisko w ogródku. Będą wieloletnią nowalijką, a odpowiednio pielęgnowane całorocznym zielem (Erenc 2003, Pawłowski 2003). Rzeżucha łąkowa ma smak kapustno-gorzycowy i gorzkawy. Niechętnie jest zjadana przez dzikie zwierzęta, ze względu na ostry smak. Zawiera olejek gorzyczny, błonnik pokarmowy, składniki mineralne, znaczące ilości beta-karotenu oraz witamin z grupy B i witaminę C. W ostatnim czasie, w związku z modą na wykorzystywanie w żywieniu niekonwencjonalnych roślin dziko rosnących, coraz większe zainteresowanie budzi rzeżucha łąkowa (*Cardamine pratensis* L.).

Pieprzycy siewna jest rośliną znaną od dawna. Wywodzi się z gatunku rosnącego dziko we wschodniej Afryce i południowo-zachodniej Azji, gdzie przypuszczalnie zaczęto ją uprawiać. Już w starożytności była ceniona przez Persów, Greków, Egipcjan i Rzymian (Sikora 2005). W Polsce rzeżucha ogrodowa znana była już za panowania króla Władysława Jagiełły. Zazwyczaj była wysiewana tylko przed Wielkanocą i traktowana jako ozdoba świątecznego stołu (Pokorska 2013, Rumińska 1993, Sikora 2005). Pieprzycy siewna jest niedocenianym, a bardzo wartościowym i łatwo dostępnym warzywem liściowym. Jadalna jest cała nadziemna część rośliny we wczesnej fazie wzrostu. Liście i ziele rzeżuchy bogate są w witaminę C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP i K oraz beta-karoten, czyli prowitaminę A. Pieprzycy zawiera również witaminę E, korzystnie wpływającą na urodę i opóźniającą proces starzenia się, a jej zawartość w 100 g świeżego ziele może być nawet 10-krotnie większa niż w sałacie. Rzeżucha zawiera także witaminę C w ilości około 30-50 mg w 100 g, co jest poziomem zbliżonym do cytryny i 3-krotnie większym niż w pomidorze. O wartości żywieniowej pędów rzeżuchy ogrodowej decyduje też znacząca ilość jodu, a także żelaza, potasu, cynku, wapnia, magnezu, fosforu, chromu, manganu, kobaltu i niklu. Ziele rzeżuchy zawiera spore ilości związków siarki, które nadają tej roślinie charakterystyczny ostry smak i

zapach. Roślina ta poprawia również trawienie, działa dezynfekująco na jamę ustną i drogi oddechowe, co jest zasługą właśnie związków siarki. Dzięki zawartości chromu, rzeżucha wpływa korzystnie na metabolizm oraz wspomaga prawidłową pracę trzustki. W skład pędów pieprzycy wchodzi węglowodany, tłuszcze i niewielkie ilości białka (Gungor i in. 2013, Kwiatek 2007, Nowak 2005, Rumińska 1993, Sikora 2005, Sikora 2011, Świąder 1998, Wilczek 2012). Wykazano, że rzeżucha ogrodowa ma pozytywny wpływ na samopoczucie oraz zmęczenie występujące w okresie przesilenia wiosennego, bowiem usuwa z organizmu toksyny oraz wzbogaca go w zestaw potrzebnych witamin i składników mineralnych. Liście rzeżuchy, ze względu na obecność dużej liczby enzymów pobudzają wydzielanie soku żołądkowego, przyspieszają przemianę materii, zwiększają także przepływ żółci do dwunastnicy oraz wytwarzanie czerwonych krwinek. Ponadto rzeżucha należy do grupy produktów niskokalorycznych. Zielarze oraz lekarze zalecają spożywanie rzeżuchy chorym na cukrzycę, ponieważ może ona wpływać na obniżenie poziomu cukru we krwi. Pieprzycę poleca się także osobom cierpiącym na niedokrwistość (Nowak 2000, Nowak 2005, Nowosielska 1986, Rumińska 1993, Sikora 2011, Wilczek 2012).

Celem niniejszej pracy było porównanie rzeżuchy ogrodowej i łąkowej pod względem zawartości wybranych związków o działaniu przeciwutleniającym oraz azotanów(III) i (V).

## 2. Materiał i metody badań

Materiałem do badań były młode pędy rzeżuchy ogrodowej (*Lepidium sativum* L.) oraz liście rzeżuchy łąkowej (*Cardamine pratensis* L.). Rzeżucha ogrodowa pochodziła z uprawy własnej. Nasiona rzeżuchy firmy „Plantico” zakupiono w sklepie ogrodniczym na terenie Krakowa w listopadzie. Następnie rzeżuchę posiano w doniczkach z ziemią. Obficie podlewano, po 10 dniach zrywano młode rośliny o wysokości 4-5 cm. Rzeżucha łąkowa zebrana została na łące na terenie województwa małopolskiego w maju 2022 r. Roślina miała wysokość ok. 40 cm. Do analizy wykorzystano liście stanowiące przyziemną rozetkę oraz te oberwane z łodygi. Materiał roślinny rozdrobniono przy użyciu noża i wymieszano.

W przygotowanym świeżym materiale wykonano:

- oznaczanie zawartości suchej masy (AOAC 2006),
- oznaczanie zawartości witaminy C (PN-A-04019:1998),
- oznaczenie polifenoli ogółem (Swain i Hillis 1959),
- oznaczenie zawartości azotanów(V) i azotanów(III) (PN-92/A-75112).

W przypadku oznaczenia poziomu polifenoli ogółem przygotowano ekstrakty metanolowe zgodnie z metodą podaną przez Re i in. (1999). Do kolby stożkowej odważano 5 g rozdrobnionego materiału roślinnego, zalewano 80 cm<sup>3</sup> 70% metanolu i wytrząsano przez 2 godziny w łaźni wodnej. Po tym czasie całość przesączono i przechowywano w stanie zamrożenia w temp. -20 °C do momentu wykonywania oznaczeń. Ekstrakty przygotowano w trzech równoległych powtórzeniach. Do odpowiednio rozcieńczonych ekstraktów metanolowych dodawano odczynnik Folin-Ciocalteu i 25% roztwór węgla sodu. Całość odstawiano na 20 minut w ciemne miejsce i po tym czasie mieszaninę odwirowano

(10 minut, 1250 obr./min) przy użyciu wirówki MPW-350e (MPW Med., Instruments, Warszawa, Polska). Następnie zmierzono absorbancję odwirowanych roztworów na spektrofotometrze (Spectro 2000RS, Labomed, Inc.), przy długości fali 760 nm, w stosunku do 70% metanolu. Stężenie polifenoli wyrażono w mg kwasu chlorogenowego/100 g produktu. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

W przypadku oznaczenia azotanów(III) i (V) z rozdrobnionego świeżego materiału odważono 10 g próbki do kolby stożkowej. Następnie próbkę zalano 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej o temperaturze 70-80 °C i dodano 5 cm<sup>3</sup> boraksu. Kolby ogrzewano w temperaturze 90-100 °C, w łaźni wodnej z wytrząsarką, przez 30 minut. Po upływie tego czasu całość schłodzono i dodano 2 cm<sup>3</sup> żelazocyjanku potasowego i 2 cm<sup>3</sup> octanu cynkowego. Następnie próbki przeniesiono ilościowo do kolby miarowej o pojemności 200 cm<sup>3</sup>, uzupełniono wodą destylowaną i przesączono. Po sączeniu do próbek dodano po 1 g węgla aktywnego i ponownie przefiltrowano. Do odpowiedniej ilości przesączu dodawano odczynnik Griessa. Pomiar absorbancji wykonano przy użyciu spektrofotometru Spectro 2000RS (Labomed, Inc.), przy długości fali 538 nm, wobec ślepej próby odczynnikowej. Ilość jonów azotanowych(III) i (V) odczytano z odpowiednich krzywych wzorcowych.

Oznaczenia zawartości analizowanych parametrów wykonano każdorazowo w trzech równoległych powtórzeniach.

Wyniki analiz poddano jednoczynnikowej analizie wariancji ANOVA. Istotność różnic obliczono na podstawie testu Duncana, przy  $p < 0,05$ . Wszystkie obliczenia wykonano przy użyciu programu Statistica, v.12 software (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

### **3. Wyniki i dyskusja**

Zawartość suchej masy w rzeźusze łąkowej wyniosła 19,71 g/100 g i była ona istotnie wyższa niż w rzeźusze ogrodowej (6,48 g/100 g). Różnice w zawartości suchej masy mogą wynikać z warunków wzrostu, ponieważ rzeżucha łąkowa zebrana została z miejsca, gdzie poziom nawodnienia rośliny zależał od warunków atmosferycznych. W okresie zbioru panowała susza, co mogło wpłynąć na wyższą zawartość suchej masy, w porównaniu z rzeżuchą ogrodową, która była uprawiana w warunkach laboratoryjnych i regularnie podlewana. W tabeli 1 przedstawiono poziom oznaczanych wyróżników w ziele rzeżuchy ogrodowej oraz łąkowej.

**Tabela 1.** Zawartość badanych związków w rzeżusze ogrodowej i łąkowej

Zawartość	wartość średnia ± SD	
	Rzeżucha ogrodowa ( <i>Lepidium sativum</i> L.)	Rzeżucha łąkowa ( <i>Cardamine pratensis</i> L.)
Sucha masa (g/100 g)	6,9 <sup>a</sup> ± 0,6	19,7 <sup>b</sup> ± 1,3
Witamina C (mg/100 g)	w świeżej masie	45,7 <sup>a</sup> ± 3,1
	w suchej masie	705,9 <sup>a</sup> ± 10,0
Polifenole ogółem (mg/100 g)	w świeżej masie	387,4 <sup>a</sup> ± 10,6
	w suchej masie	5978,4 <sup>a</sup> ± 8,9
Azotany(III) (mg NO <sub>2</sub> /kg)	w świeżej masie	1,6 <sup>a</sup> ± 0,2
	w suchej masie	24,7 <sup>a</sup> ± 3,1
Azotany(V) (mg NO <sub>3</sub> /kg)	w świeżej masie	71,0 <sup>a</sup> ± 0,7
	w suchej masie	1059,7 <sup>a</sup> ± 9,0
		1213,7 <sup>b</sup> ± 9,0
		421,6 <sup>b</sup> ± 5,4
		2,0 <sup>a</sup> ± 0,0
		10,1 <sup>b</sup> ± 1,1
		13,7 <sup>b</sup> ± 2,0
		69,5 <sup>b</sup> ± 7,1

Objaśnienia: SD – odchylenie standardowe; oznaczenie wartości średnich różnymi indeksami literowymi świadczy o występowaniu istotnych różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Zawartość witaminy C i polifenoli ogółem była istotnie większa w rzeżusze łąkowej niż w ogrodowej ( $p < 0,05$ ), co może wynikać z warunków środowiskowych wzrostu roślin. Polifenole są wtórnymi metabolitami roślin, produkowanymi przez nie dla obrony przed niekorzystnymi warunkami środowiskowymi, np. niską temperaturą, suszą, szkodnikami itp. W środowisku naturalnym takich czynników jest więcej, a więc i reakcja rośliny jest silniejsza. Polifenole stanowią liczną grupę związków biologicznie aktywnych występujących w roślinach, wykazujących silne działanie przeciwutleniające, którym przypisuje się istotną rolę w profilaktyce wielu chorób. Związki o charakterze przeciwutleniającym reprezentowane są w roślinach przede wszystkim przez polifenole (fenolokwasy, flawonoidy wraz z antocyjanami), witaminę C, tokoferole, karotenoidy, a ponadto kwasy organiczne, glutation i inne. Żywnościowcy zalecają systematyczne spożywanie polifenoli, najlepiej w postaci pięciu porcji dziennie. Związki te zalicza się do tzw. przeciwutleniaczy pierwszorzędowych, wykazujących zdolność bezpośredniej reakcji z wolnymi rodnikami i przez to najskuteczniej wygaszają reakcje wolnorodnikowe (Borkowska i in. 2008, Dittfeld i in. 2013, Pinto i in. 2021). Porównując zawartość polifenoli ogółem w rzeżusze ogrodowej i łąkowej z innym zielonymi warzywami można zauważyć, że w szpinaku wynosiła ona 280,5 mg/100 g świeżej masy, czyli o połowę mniej niż w badanych rzeżuchach (tab. 1). Z kolei w sałacie polifenole stanowią jedynie 6,06 mg/100 g świeżej rośliny, w bazylii 2,43 mg/100 g, w szczypiorku 1,86 mg/100 g, a w natce pietruszki zaledwie 1,79 mg/100 g (Bąk-Stępień i in. 2017, Borkowski i in. 2008, Dec i in. 2016, Lima i in. 2014, Pinto i in., 2021, Sakakibara i in. 2003). Jak można zauważyć, zarówno rzeżucha ogrodowa, jak i łąkowa zawierają o wiele więcej polifenoli, niż popularnie uprawiane i spożywane warzywa zielone.

Witamina C, wykazująca mniejszą aktywność przeciwutleniającą niż związki fenolowe, jest skuteczna w prewencji choroby wieńcowej. Przeprowadzone analizy wykazały, że badane rośliny zawierały znaczącą ilość witaminy C, szczególnie rzeżucha łąkowa – 239,21

mg kwasu askorbinowego w 100 g świeżej rośliny, co jest poziomem wyższym niż w natce pietruszki (177 mg/100 g) czy jarmużu (120 mg/100 g). Ogólnie wiadomo, że zawartość składników, w tym związków bioaktywnych, i ich właściwości uwarunkowane są przede wszystkim genetycznie i zależą od gatunku rośliny, jak również oddziaływania innych czynników, jak klimat, warunki agrotechniczne, czy też sposób przechowywania po zbiorze (Borkowska i in. 2008). Rzeżucha ogrodowa zawierała zbliżoną ilość witaminy C (45,74 mg/100 g) do szczypiorku (41 mg/100 g) czy szczawiu (35 mg/100 g), co wskazuje, że może ona stanowić zamiennik tych warzyw w codziennej diecie (Iwanow i in. 2014).

Do nieodżywczych składników roślin, często o niepożądanym działaniu na organizm człowieka, należą m.in. azotany(V) i (III). Mogą one pochodzić z gleby (nawożenie), z wody (ścieki, nawozy), a także z powietrza (pyły, spaliny). Warzywa są głównym źródłem azotanów w diecie człowieka, dostarczają nawet do 87% ogólnej ilości azotanów dostarczanej z pożywieniem. Stopień kumulacji tych związków w roślinach zależy m.in. od typu gleby, jej pH, wilgotności, zawartości mikroelementów, a także pory zbioru. Same azotany(V) są mało szkodliwe dla zdrowia człowieka, natomiast powstające z nich, w wyniku redukcji mikrobiologicznej, azotany(III) są wysoce toksyczne (Bian i in. 2020, Czech i Rusinek 2005, Mehri i in. 2021). Zawartość azotanów(V) wyrażona jako jon azotanowy ( $\text{NO}_3^-$ ) w rzeżusze ogrodowej kształtowała się na poziomie 71,0 mg/kg świeżej masy oraz 13,7 mg/kg w rzeżusze łąkowej. Dla przykładu w sałacie zawartość tych związków wynosiła 776,7 mg/kg świeżej masy, w szpinaku – 283,6 mg/kg, w szczypiorze – 823,7 mg/kg, a w liściach szczawiu 917,1 mg/kg. Zawartość azotynów (III) wyrażona jako jon azotynowy ( $\text{NO}_2^-$ ) wyniosła w rzeżusze ogrodowej 1,6 mg/kg, a w łąkowej 2,0 mg/kg. W innych roślinach zawartość tego składnika wynosiła: w sałacie 0,014 mg/kg, szpinaku 0,01 mg/kg, szczypiorku 0,009 mg/kg i szczawiu 0,014 mg/kg (Bian i in. 2020, Mehri i in. 2021). Szkodliwość jonów azotanowych(III) dla organizmu człowieka wynika z ich właściwości utleniających, m.in. zalicza się je do czynników methemoglobinemiotwórczych (Bian i in., 2020; Mehri i in., 2021). Warzywa jako podstawowe źródło azotanów(V) w diecie, będących prekursorami azotanów(III), zawierają jednocześnie duże ilości związków przeciwutleniających, jak wspomniane wcześniej polifenole, witamina C, czy karotenoidy, które mogą skutecznie neutralizować szkodliwe oddziaływanie azotanów(III) na organizm. Dlatego obecnie przywiązuje się mniejszą uwagę do problemu występowania azotanów(III) i (V) w tej grupie produktów i są one przez to coraz rzadziej przedmiotem badań (Czech i Rusinek 2005).



#### 4. Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że oba rodzaje rzeżuchy ze względu na zawartość związków przeciwutleniających oraz witaminy C mogą stanowić dobry zamiennik popularnych zielonych warzyw w diecie. Ponadto, podczas uprawy w warunkach domowych rzeżuchy ogrodowej wyeliminowane jest stosowanie szkodliwych środków ochrony roślin, używanych powszechnie w towarowej uprawie warzyw i owoców do sprzedaży.

#### Literatura

1. AOAC (2006). Official methods of analysis, 18th Edn., Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, Rockville, MD, USA.
2. Bąk-Stępień I. Kormańska A., Karwowski B., Panek M. (2017). Badania zawartości związków polifenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej szpinaku (*Spinacia oleracea* L.). *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 241-245.
3. Bian Z., Wang Y., Zhang, X., Li T., Grundy S., Yang Q., Cheng R. (2020). A review of environment effects on nitrate accumulation in leafy vegetables grown in controlled environments. *Foods*, 9(6), 732.
4. Borowski J., Szajdek A., Borowska, E. J. (2008). Charakterystyka chemiczna i aktywność biologiczna warzyw z terenu Olsztyna. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 333-337.
5. Czech A., Rusinek E. (2005). Zawartość metali ciężkich oraz azotanów i azotynów w wybranych warzywach z rejonu Lubelszczyzny. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 56(3), 229-236.
6. Dec D., Piekut J., Zyskowska A. (2016). Zmiany zawartości związków fenolowych w wybranych roślinach przyprawowych pod wpływem procesu mrożenia. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1, 32-35.
7. Dittfeld A., Koszowska A., Nowak J., Zublewicz-Szkodzińska B. (2013). Polifenole w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Postępy Fitoterapii*, 4, 263-266.
8. Erenc I. (2003). Zielnik. *Przyroda Polska*, 7, 29-31.
9. Gungor S. Yildirim E. Turan M. Demirbas M. (2013). Antioxidant and nutritional characteristics of garden cress (*Lepidium sativum*). *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 12(4), 173-179.
10. Iwanow K., Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B. (2014). Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
11. Kwiatek U. L. (2007). Romans skrzyphu z rzeżuchą. *Brać Łowiecka*, 4, 70.
12. Lima G. P. P., Vianell F., Corrêa C. R., Campos R. A. D. S., Borguini, M. G. (2014). Polyphenols in fruits and vegetables and its effect on human health. *Food and Nutrition Sciences*, 1065-1082.

13. Mehri F., Heshmati A., Moradi M., Khaneghah A. M. (2021). The concentration and health risk assessment of nitrate in vegetables and fruits samples of Iran. *Toxin Reviews*, 40(4), 1215-1222.
14. Nowak T. Z. (2000). Rośliny zielarskie w apteczce domowej i kuchni. *Wiadomości Zielarskie*, 1(67), 22-23.
15. Nowak T. Z. (2005). Jedzmy rzeżuchę! Zdrowa Żywność. *Zdrowy Styl Życia*, 1(67), 22-23.
16. Nowosielska B. (1986). Boćwina, rzeżucha: warzywa liściowe w ogrodzie i na stole. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
17. Pawłowski W. (2003). Kapustny czosnek. *Przyroda Polska*, 5.
18. Pinto T., Aires A., Cosme F., Bacelar E., Morais M. C., Oliveira I., Ferreira-Cardoso J., Anjos R., Vilela A., Gonçalves Gonçalves B. (2021). Bioactive (poly)phenols, volatile compounds from vegetables, medicinal and aromatic plants. *Foods*, 10(1), 106.
19. PN-A-04019:1998. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
20. PN-92/A-75112. Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczenie zawartości azotynów i azotanów.
21. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
22. Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., Kanazawa K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 571-581.
23. Swain T., Hillis W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10, 63-68.
24. Pokorska B. (2013). Przysmak Napoleona. Rzeżucha ogrodowa. *Przegląd Gastronomiczny*, 67(4), 11.
25. Rumińska A. (1993). Rzeżucha ogrodowa – pieprzyca siewna. *Wiadomości Zielarskie*, 35(4), 18.
26. Sikora E. (2004). Nowalijki. *Działkowiec*, 63.
27. Sikora E. (2005). Rzeżucha – najszybsza zielenina jesienią i zimą. *Działkowiec*, 11, 52.
28. Sikora E. (2011). Rzeżucha nie tylko na Wielkanoc. *Działkowiec*, 4, 56.
29. Świąder M. (1998). Ogrodowa rzeżucha. *Działkowiec*, 3, 30.
30. Wilczek K. (2012). Wielkanocna zieleń rzeżuchy. *Ogrody, Ogródki, Zieleńce*, 4, 24.

## **Comparison of the content of selected antioxidant compounds, nitrates (III) and (V) in the herb garden cress (*Lepidium sativum* L.) and meadow cress (*Cardamine pratensis* L.)**

### **Abstract**

For many people, the cultivation of cress is associated only with the Easter period. This plant is still too little widespread. Therefore, it would be necessary to pay attention to this plant and increase its consumption because it contains valuable nutrients, is easy and cheap to grow and available throughout the year. The aim of the work was to compare garden cress and meadow cress in terms of the content of selected compounds with antioxidant activity as well as nitrates (III) and (V). For this purpose, the determination of dry matter content, vitamin C content, nitrate(V) and nitrate(III) contents and determination of polyphenols were performed.

Based on the results of the study, it was found that garden and meadow cress contain a similar content of the tested ingredients compared to popular green vegetables and they can be a substitute for them in the daily diet. The results obtained in this work can be treated as a premise for conducting further, extended research on the antioxidant properties and chemical composition of garden cress and meadow cress and the impact of these plants on human health.

# Wpływ dodatku białka konopnego na właściwości fizykochemiczne i organoleptyczne jogurtów wytworzonych na bazie mleka ekologicznego

Aneta Brodziak<sup>1\*</sup>, Jolanta Król<sup>1</sup>, Joanna Wajs<sup>1</sup>, Tomasz Czernecki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,  
Katedra Oceny Jakości i Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka

\*Autor korespondencyjny: aneta.brodziak@up.lublin.pl

## Streszczenie

W przemyśle białko konopne może stanowić alternatywę dla dodatku mleka w proszku do jogurtu czy kształtować jego cechy organoleptyczne. W związku z powyższym celem pracy było dokonanie oceny wartości odżywczej, kwasowości, instrumentalnej oceny barwy oraz jakości mikrobiologicznej i organoleptycznej jogurtów z dodatkiem białka konopnego. Jogurty wytworzono metodą termostatową na bazie ekologicznego mleka krowiego. Jako kulturę starterową użyto szczepionkę jogurtową FD-DVS YoFlex® YC-X11 (ChR Hansen) w ilości 0,15 g/l mleka. Białko konopne zastosowano w ilości 1, 3, 5, 10 i 15% w formie proszku, grupę kontrolną stanowiły jogurty niezawierające tego dodatku.

Wraz ze wzrostem ilości dodatku białka konopnego, zwiększyła się istotnie zawartość białka ogólnego z 3,48 do 8,98% ( $p \leq 0,01$ ). Istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wzrósł również udział węglowodanów przyswajanych, błonnika całkowitego i tłuszczu w jogurcie z największą ilością dodatku w porównaniu do produktu kontrolnego, co wpłynęło na większą wartość energetyczną jogurtów (96 kcal/100 g dla jogurtu z 15% dodatkiem białka). Jogurty uzyskały wysokie noty za ogólną jakość organoleptyczną (> 4 pkt.), przy czym lepiej oceniono jogurty z dodatkiem białka konopnego nie przekraczającym 5%. W jogurcie o największej zawartości białka konopnego negatywnie oceniono barwę jako zbyt zieloną, co znalazło odzwierciedlenie w instrumentalnej oceny barwy. Zaproponowany dodatek białka konopnego na maksymalnym poziomie 15% nie został oceniony pozytywnie pod względem organoleptycznym i w związku z tym najoptymalniejszą ilością białka konopnego w jogurcie było 3-5%.

**Słowa kluczowe:** jogurt, konopia siewna, jakość, wartość odżywcza, barwa

## 1. Wprowadzenie

Łącząc naukę z rozwojem przemysłu spożywczego, głównym obszarem poszukiwań naukowców i przedsiębiorców stały się alternatywne i innowacyjne fitoprodukty (Rupasinghe i in. 2020). W ostatnich latach szczególnym zainteresowaniem obdarzono konopię, która należy do rodzaju *Cannabis* i rodziny *Cannabaceae*. Na świecie powszechnie znana jest konopia indyjska (*Cannabis sativa* L. var. *indica*), która stanowi źródło psychoaktywnej substancji uzależniającej – delta-9-tetrahydrokannabinol (THC), która spożywana jest na

całym świecie przez ponad 140 mln osób, również w celach leczniczych (Muzammal i in. 2021, WHO 2019). Konopia pierwotnie występowała w okolicach gór Hindukusz w środkowej części Azji. Od tysięcy lat jest uprawiana na różnych szerokościach geograficznych. Właściwości zagrażających zdrowiu nie posiadają dwie inne odmiany z rodziny *Cannabaceae*, tj. konopia siewna (*Cannabis sativa* L. var. *sativa*), zwana inaczej włóknistą oraz konopia dzika (*Cannabis sativa* L. var. *ruderalis*), zajmująca stanowiska ruderalne (Internet 1, Kaniewski i in. 2017). Konopie wykorzystywane są do produkcji żywności i paszy dla zwierząt, odzieży i tekstyliów, papieru i przyborów malarskich oraz biotworzyw sztucznych i biopaliw (Cerino i in. 2021). Według 6-grupowej klasyfikacji *Cannabis sativa* z 2015 roku (Small 2015), do celów przemysłowych wykorzystywane są odmiany, w których obowiązuje obecnie przyjęty limit dla THC na maksymalnym poziomie 0,3% lub mniej (Aloo i in. 2022, Malone i in. 2019).

Doniesienia z ostatnich dwóch dekad dotyczące konopi, a także kształtowanie się nowych potrzeb żywieniowych wśród konsumentów, odnoszące się głównie do świadomości osobistego zdrowia z wykorzystaniem zdolności terapeutycznych konopi, kształtują nowy trend zastosowania różnych form tego dodatku roślinnego w szerokiej grupie produktów spożywczych. Każda z form stanowi kompleks bezpiecznych dla organizmu związków o niewielkim stopniu przetworzenia, stanowiących element profilaktyki względem niezakaźnych chorób przewlekłych (Moon i in. 2020, Ropciuc i in. 2022, Rusu i in. 2021, Steinmetz i in. 2023, Teterycz i in. 2021, Zahari i in. 2020).

W licznych badaniach przeprowadzanych w różnych rejonach świata, oceniano korzyści zdrowotne kwiatów, nasion oraz liści konopnych. Na ich podstawie naukowcy wywnioskowali, że najbardziej odżywczym i jedynym dopuszczonym elementem przetwórczym, zarówno z łuską, jak i bez są nasiona. W dalszej kolejności wskazano kiefki, kwiaty oraz liście (Farinon i in. 2020).

Siemię konopne, inaczej zwane nasionami konopnymi, posiada szereg właściwości odżywczych. Różnice w zawartości poszczególnych składników występują w zależności od czynników zewnętrznych towarzyszących uprawie (Mattila i in. 2018). Nasiona stanowią unikatowe źródło składników odżywczych. Cechują się większą zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), w tym kwasu alfa-linolenowego, i większym stosunkiem PUFA do SFA (kwasów nasyconych), jak również większą zawartością magnezu i składników frakcji niezmydlającej się (skwalenu,  $\alpha$ -tokoferolu,  $\beta$ -sitosterolu i  $\Delta$ 5-awenasterolu) w porównaniu do oleju i mąki (Siano i in. 2018). Na tle innych nasion, nasiona konopne wyróżniają się wysoką zawartością istotnych dla zdrowia aminokwasów (kwasu glutaminowego, argininy, asparaginy, lizyny, waliny), porównywalną do siemienia lnianego ilością węglowodanów, z przewagą nierozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego oraz bogaty profil mineralny (P, K, Mg, Ca, Na, Fe, Mn, Zn i Cu) (House i in. 2010, Lan i in. 2019, Mattila i in. 2018). Oprócz składników podstawowych, nasiona konopi stanowią cenne źródło bioaktywnych peptydów oraz innych związków, w tym fenoli i fitosteroli, o charakterze przeciwutleniającym, ograniczającym rozwój czynnika martwicy nowotworu

$\alpha$ , przeciwzapalnym, przeciwcukrzycowym, kardio- i neuroprotektynym, m.in. względem łagodnej i umiarkowanej postaci choroby Alzheimera oraz Parkinsona (Fordjour i in. 2023, Manosroi i in. 2019, Ren i in. 2016, Yan i in. 2015, Zhou i in. 2018). Oprócz nasion, na szczególną uwagę zasługują kiełki konopne, ze względu na obecność białka oraz fitochemicznych związków o charakterze przeciwzapalnym jako nowa alternatywa dla przemysłu spożywczego (Moon i in. 2020).

Ze względu na omówione właściwości, w przemyśle białko konopne może stanowić alternatywę dla mleka w proszku dodawanego do jogurtu, który jest dobrym nośnikiem komponentów roślinnych w różnych formach. W literaturze opisano przykładowe zastosowanie produktów ubocznych z wytwarzania oleju z *Cannabis sativa* w jogurtach probiotycznych (Nakov 2022), jak również optymalizację wskaźników reologicznych struktury jogurtu z dodatkiem izolatu białka nasion konopi (Helikh i in. 2022) i wpływ dodatku mąki konopnej na właściwości jogurtu owczego i krowiego (Nakov i in. 2023).

W związku z powyższym, celem pracy była ocena wartości odżywczej, kwasowości, barwy oraz jakości mikrobiologicznej i organoleptycznej jogurtów wytworzonych na bazie ekologicznego mleka krowiego, z różnym udziałem białka konopnego.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Produkcja jogurtu**

Surowcem do produkcji jogurtów było mleko surowe pozyskane z certyfikowanego gospodarstwa ekologicznego usytuowanego na terenie województwa podkarpackiego. Mleko poddano obróbce cieplnej w temperaturze 85 °C, przez 30 min. Jogurty wytwarzano metodą termostatową. Po obróbce cieplnej mleko schłodzono do temperatury 43 °C i zaszczerpiono termofilnymi kulturami jogurtowymi FD-DVS YC-X11 Yo-Flex (*Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) w ilości 0,15 g/l (Chr. Hansen, Dania) (Glibowski i Rybak 2016). Na tym etapie dodano również do mleka ekologiczne białko konopne w formie proszku (Bio Planet) w ilości 1, 3, 5, 10 i 15%. Grupę kontrolną stanowiły jogurty niezawierające dodatku białka. Jogurty inkubowano w temperaturze 43 °C, do uzyskania wartości pH około 4,6 (zgodnie z wytycznymi producenta szczepionki). Po inkubacji jogurty schłodzono.

### **2.2. Metody badań**

Kwasowość czynną (pH) określono za pomocą pH-metru CP-401 (Elmetron, Polska), natomiast potencjalną metodą miareczkową (PN-A-86061:2002), wyrażając jako g kwasu mlekowego/100 g produktu.

W ramach oceny jakości mikrobiologicznej określono: całkowitą liczbę charakterystycznych dla jogurtu bakterii kwasu mlekowego (PN-ISO 7889:2007), całkowitą liczbę drożdży i/lub pleśni (PN-ISO 6611:2007), całkowitą liczbę bakterii z rodzaju *Clostridium* sp. (PN-ISO 15213:2005), całkowitą liczbę bakterii coli typu kałowego (PN-ISO 4832:2007) oraz obecność bakterii *Salmonella* (PN-EN ISO 6579-1:2017-04). Wyniki wyrażono jako liczbę jednostek tworzących kolonie w 1 g jogurtu (jtk/g) (Brodziak i in. 2020).

Analiza wartości odżywczej obejmowała oznaczenie poziomu suchej masy, białka ogólnego i tłuszczu. Zawartość białka ogólnego określono metodą Kjeldahla (PN-EN ISO 8968-1:2014) z zastosowaniem mineralizatora Tecator Digester Auto 20 (FOSS Analytics, Dania) oraz automatycznego analizatora KjelROC (OPSIS LiquidLINE, Szwecja); tłuszczu - metodą wagową przy użyciu urządzenia ekstrakcyjnego Soxtec Avanti® (FOSS Analytics, Dania) oraz wagi analitycznej PS 750/X (Radwag, Polska), zaś suchej masy p metodą suszenia w temperaturze 102 °C w suszarce laboratoryjnej (Memmert, Niemcy) według PN-A-86061:2006. Ponadto oznaczono ilość błonnika pokarmowego całkowitego według normy PN-A-79011-15:1998. Zawartość węglowodanów przyswajalnych i kaloryczność określono metodą obliczeniową.

Instrumentalną ocenę barwy, opartą na systemie CIELab, przeprowadzono za pomocą chromometru Minolta CR-310 (Minolta Camera Co. Ltd., Japonia) według Brodziak i in. (2020). Parametry ocenione w systemie CIELab obejmowały: L\* – jasność, a\* – czerwona/zielona i b\* – żółta/niebieska (CIE, 2004).

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

W ramach oceny organoleptycznej (skala 5-punktowa) określono: barwę, konsystencję, smak, zapach i ogólną akceptację jogurtów, których temperatura wynosiła ok. 20 °C według. Zespół przeszkolonych degustatorów stanowiło 10 osób (Baryłko-Pikielna i Matyszewska 2014, Brodziak i in. 2020).

### 2.3. Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji – ANOVA (StatSoft Inc. Statistica wer. 13.1, Dell, USA). Istotność różnic między średnimi dla grup została określona przy poziomach istotności  $p < 0,05$  i  $p < 0,01$ . Wyniki zaprezentowano jako średnie  $\pm$  odchylenie standardowe (SD).

## 3. Wyniki i dyskusja

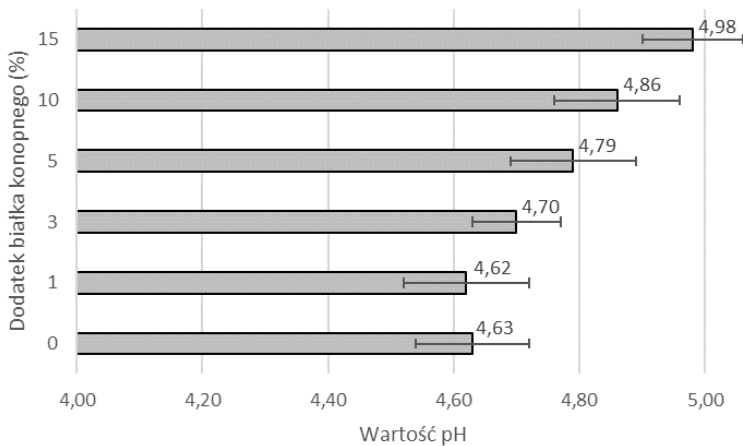
Zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności jest głównym zadaniem producenta. Należy pamiętać, że na jakość mikrobiologiczną wyrobu gotowego, oprócz higieny produkcji, wpływa jakość zastosowanych komponentów. Wyniki oceny jakości mikrobiologicznej przedstawiono w tabeli 1. Jogurty charakteryzowały się wysoką jakością mikrobiologiczną, co wskazuje również na czystość mikrobiologiczną samego dodatku. W wytworzonych jogurtach, niezależnie od dodatku białka, nie stwierdzono obecności drożdży i pleśni, jak również bakterii coli typu kałowego, *Clostridium* sp. i *Salmonella*. Liczba bakterii kwasu mlekowego wynosiła  $6,9-7,2 \times 10^7$  jtk/g.



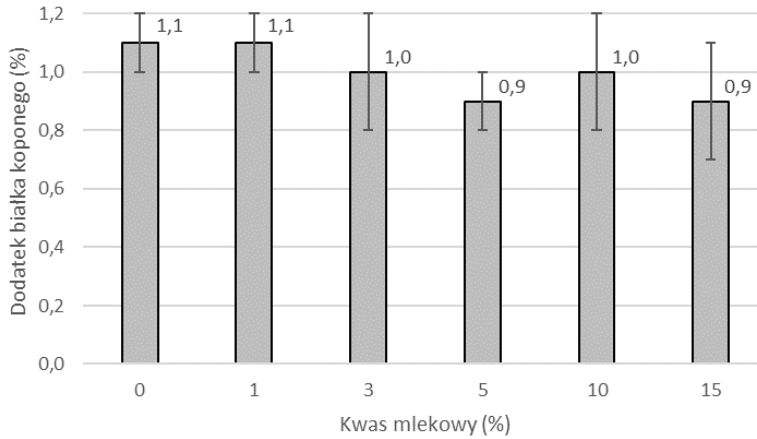
**Tabela 1.** Jakość mikrobiologiczna analizowanych jogurtów (jtk/g)

Dodatek białka konopi (%)	Całkowita liczba drożdży i pleśni	Całkowita liczba bakterii kwasu mlekowego	Całkowita liczba bakterii z rodzaju <i>Clostridium</i> sp.	Całkowita liczba bakterii coli typu kałowego	Obecność pałeczek <i>Salmonella</i>
0	0	$7,2 \times 10^7$	0	0	0
1	0	$7,0 \times 10^7$	0	0	0
3	0	$7,1 \times 10^7$	0	0	0
5	0	$6,9 \times 10^7$	0	0	0
10	0	$6,9 \times 10^7$	0	0	0
15	0	$7,0 \times 10^7$	0	0	0

Wykazano, że dodatek białka konopnego spowodował obniżenie kwasowości, czego wyrazem był wzrost wartości pH, z 4,63 (jogurt kontrolny) do 4,98 (15%), przy czym różnica nie była statystycznie istotna (rys. 1). Wartości te są zbliżone do wyników uzyskanych przez Shokery i in. (2017) dla jogurtów fortyfikowanych ekstraktem z liści zielonej herbaty i moringi oraz Brodziak i in. (2020) dla jogurtów bez i z dodatkiem rokitnika. Dodatek białka konopi nie wpłynął istotnie również na zawartość kwasu mlekowego, którego ilość wynosiła średnio 1% (rys. 2). Uzyskane wartości są porównywalne z wynikami Kalyas i Ürkek (2022). Z kolei Nakov i in. (2023) wykazali, że dodatek mąki tortowej z konopi do jogurtów istotnie wpływał na ich kwasowość, prowadząc do wzrostu pH i zmniejszenia kwasowości miareczkowej.



**Rysunek 1.** Wartość pH analizowanych jogurtów (średnia, SD)



**Rysunek 2.** Zawartość kwasu mlekowego (%) w analizowanych jogurtach (średnia, SD)

Wraz ze wzrostem ilości dodatku, zwiększyła się istotnie zawartość białka ogólnego z 3,48 do 8,98% ( $p \leq 0,01$ ). Istotnie wzrósł również udział pozostałych składników suchej masy, tj. tłuszczu o 1 pkt. procentowy (p.p.), węglowodanów przyswajalnych – o 0,21 p.p. i błonnika całkowitego – o 1,94 p.p., w jogurcie o największym dodatku białka, w porównaniu do produktu kontrolnego.

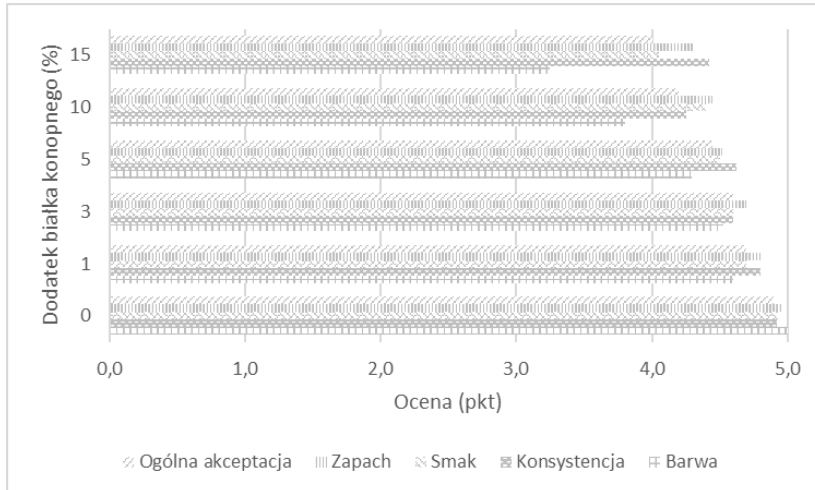
**Tabela 2.** Wartość energetyczna i zawartość podstawowych składników w analizowanych jogurtach (średnia  $\pm$  SD)

Dodatek białka koponego (%)	Wartość energetyczna (kcal/100 g)	Białko ogólne (%)	Tłuszcz (%)	Węglowodany przyswajalne (%)	Sucha masa (%)	Błonnik całkowity (%)
0	69 <sup>A</sup> $\pm$ 1	3,48 <sup>A</sup> $\pm$ 0,03	3,29 <sup>A</sup> $\pm$ 0,01	4,72 <sup>A</sup> $\pm$ 0,03	12,19 <sup>A</sup> $\pm$ 0,97	0,00 <sup>A</sup> $\pm$ 0,00
1	70 <sup>A</sup> $\pm$ 1	3,55 <sup>B</sup> $\pm$ 0,05	3,32 <sup>A</sup> $\pm$ 0,02	4,74 <sup>A</sup> $\pm$ 0,04	12,47 <sup>A</sup> $\pm$ 1,06	0,13 <sup>B</sup> $\pm$ 0,02
3	71 <sup>A</sup> $\pm$ 1	3,66 <sup>B</sup> $\pm$ 0,06	3,49 <sup>B</sup> $\pm$ 0,02	4,78 <sup>A</sup> $\pm$ 0,07	13,69 <sup>A</sup> $\pm$ 1,15	0,45 <sup>B</sup> $\pm$ 0,04
5	74 <sup>A</sup> $\pm$ 1	3,84 <sup>C</sup> $\pm$ 0,03	3,64 <sup>B</sup> $\pm$ 0,03	4,81 <sup>B</sup> $\pm$ 0,07	15,30 <sup>B</sup> $\pm$ 1,34	0,70 <sup>B</sup> $\pm$ 0,08
10	81 <sup>B</sup> $\pm$ 2	4,41 <sup>D</sup> $\pm$ 0,04	4,31 <sup>C</sup> $\pm$ 0,05	4,86 <sup>C</sup> $\pm$ 0,05	18,78 <sup>C</sup> $\pm$ 1,45	1,44 <sup>B</sup> $\pm$ 0,12
15	96 <sup>C</sup> $\pm$ 2	8,98 <sup>E</sup> $\pm$ 0,07	4,40 <sup>C</sup> $\pm$ 0,06	4,93 <sup>C</sup> $\pm$ 0,08	20,27 <sup>D</sup> $\pm$ 1,93	1,94 <sup>B</sup> $\pm$ 0,25

Objaśnienia: A-E – różnice dla poszczególnych parametrów barwy pomiędzy wielkością dodatku, istotne przy  $p \leq 0,01$

Bardzo istotnym elementem oceny nowego produktu żywnościowego są badania konsumenckie (Arslaner i in. 2021). Spośród wszystkich analizowanych wariantów najwyższe noty otrzymał jogurt kontrolny. Jogurty z dodatkiem białka koponego uzyskały wysokie noty za ogólną jakość organoleptyczną (>4 pkt.), przy czym lepiej oceniono jogurty z dodatkiem białka nie przekraczającym 5% (rys. 3). W jogurcie o największej zawartości białka koponego negatywnie oceniono barwę, którą określono jako „zbyt zieloną”, „trudną do zaakceptowania”. Wyczuwalny był także zbyt intensywny posmak białka koponego. W badaniach Nakov i in. (2023), jogurty wzbogacone w 4% i 6% dodatek mąki koponej

wykazywały natomiast najlepsze właściwości organoleptyczne, w porównaniu do jogurtu kontrolnego.



Rysunek 3. Ocena organoleptyczna analizowanych jogurtów

Na podstawie instrumentalnej oceny barwy (tab. 3) stwierdzono z reguły istotny ( $p < 0,01$ ) wzrost udziału barwy zielonej i żółtej w wyniku dodania zielonkawego białka konopnego do jogurtów, o czym świadczyło ponad 6-krotne zmniejszenie się wartości parametru  $a^*$  i ponad 2-krotny wzrost wartości parametru  $b^*$ . Zmianie tej towarzyszyło istotne i ponad 3-krotne zmniejszenie jasności (parametr  $L^*$ ).

Tabela 3. Parametry barwy ocenianej instrumentalnie dla analizowanych jogurtów

Dodatek białka konopnego (%)	$L^*$	$a^*$	$b^*$
0	97,14 <sup>D</sup> ± 0,04	-2,29 <sup>E</sup> ± 0,03	8,09 <sup>A</sup> ± 0,03
1	47,00 <sup>C</sup> ± 0,11	-6,13 <sup>D</sup> ± 0,02	11,70 <sup>B</sup> ± 0,09
3	39,55 <sup>B</sup> ± 0,01	-7,21 <sup>D</sup> ± 0,02	12,80 <sup>C</sup> ± 0,03
5	37,12 <sup>B</sup> ± 0,06	-9,53 <sup>C</sup> ± 0,01	13,81 <sup>C</sup> ± 0,05
10	35,12 <sup>B</sup> ± 0,11	-11,34 <sup>B</sup> ± 0,03	15,70 <sup>D</sup> ± 0,00
15	30,78 <sup>A</sup> ± 0,10	-14,15 <sup>A</sup> ± 0,04	17,54 <sup>E</sup> ± 0,13

Objaśnienia: A-E – różnice dla poszczególnych parametrów barwy pomiędzy wielkością dodatku, istotne przy  $p \leq 0,01$

#### 4. Podsumowanie

Dodatek białka konopnego wpłynął istotnie i korzystnie na wartość energetyczną i wartość odżywczą jogurtów. Zaproponowany dodatek na maksymalnym poziomie 15% nie został oceniony pozytywnie pod względem cech organoleptycznych, przede wszystkim ze względu na ciemną barwę. Optymalny poziom białka konopnego w jogurtach wyniósł 3-5%.

Projekt finansowany w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego pod nazwą „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” w latach 2019-2023, nr projektu 029/RID/2018/19, kwota finansowania 11 927 330,00 zł.

## Literatura

1. Alonso-Esteban J. I., Pinela J., Ćirić A., Calhella R. C., Soković M., Ferreira I. C. F. R., Barros L., Torija-Isasa E., Sánchez-Mata M. C. (2022). Chemical composition and biological activities of whole and dehulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Food Chemistry*, 374, 131754.
2. Aloo S. O., Mwiti G., Ngugi L. W., Oh D-H. (2022). Uncovering the secrets of industrial hemp in food and nutrition: The trends, challenges, and new-age perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-20.
3. Arslaner A., Salik M. A., Bakirci I. (2021). The effects of adding *Hibiscus sabdariffa* L. flowers marmalade on some quality properties, mineral content and antioxidant activities of yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 223–233.
4. Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I. (2014). *Sensoryczne badania żywności: Podstawy, metody, zastosowania* (Wyd. 2). Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków.
5. Brodziak A., Król J., Matwijczuk A., Czernecki T., Glibowski P., Wlazło Ł., Litwińczuk A. (2021). Effect of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) mousse on properties of probiotic yoghurt. *Applied Sciences*, 11(2), 545.
6. Cerino P., Buonerba C., Cannazza G., D'Auria J., Ottoni E., Fulgione A., Di Stasio A., Pierri B., Gallo A. (2021). A review of hemp as food and nutritional supplement. *Cannabis Cannabinoid Research*, 6(1), 19-27.
7. CIE. (2004). *Colorimetry*, 3rd ed.; Commission International de l'Éclairage: Vienna, Austria, 16-20.
8. Farinon B., Molinari R., Costantini L., Merendino N. (2020). 1935. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7), 1935.
9. Fordjour E., Manful C.F., Sey A. A., Javed R., Pham T. H., Thomas R., Cheema M. (2023). Cannabis: a multifaceted plant with endless potentials. *Frontiers in Pharmacology*, 15(14), 1200269.
10. Glibowski P., Rybak P. (2016). Rheological and sensory properties of stirred yoghurt with inulin-type fructans. *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 122–128.
11. Helikh A., Danylenko S., Kryzhska T., Semernya O. (2022). Optimization of rheological indicators of yoghurt structure with addition of hemp seed protein isolate. *ПРОДОВОЛЬЧИ РЕСУРСИ*, 52.
12. House J. D., Neufeld J., Leson G. (2010). Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 11801–11807.

13. Internet 1. <https://medium.com/cbd-origin/hemp-vs-marijuana-the-difference-explained-a837c51aa8f7>.
14. Kalyas A., Ürkek B. (2022). Effect of flaxseed powder on physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of yoghurt. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210012.
15. Kaniewski R., Poniewska I., Kubacki A., Strzelczyk M., Chudy M., Oleszak G. (2017). *Konopie siewne (Cannabis sativa L.) – wartościowa roślina użytkowa i lecznicza. Postępy Fitoterapii*, 18(2), 139-144.
16. Lan Y., Zha F., Peckrul A., Hanson B., Johnson B., Rao J., Chen B. (2019). Genotype x environmental effects on yielding ability and seed chemical composition of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties grown in North Dakota, USA. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 296, 1417–1425.
17. Malone T., Gomez K. (2019). Hemp in the United States: A case study of regulatory path dependence. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 41(2), 199–214.
18. Manosroi A., Chankhampan C., Kietthanakorn B. O., Ruksiriwanich W., Chaikul P., Boonpisuttinant K., Manosroi J. (2019). Pharmaceutical and cosmeceutical biological activities of hemp (*Cannabis sativa* L. var. *sativa*) leaf and seed extracts. *Chiang Mai Journal of Science*, 46, 180–195.
19. Mattila P., Mäkinen S., Eurola M., Jalava T., Pihlava J. M., Hellström J., Pihlanto A. (2018). Nutritional value of commercial protein-rich plant products. *Plant Foods and Human Nutrition*, 73, 108-115.
20. Moon Y. H., Cha Y. L., Lee J. E., Kim K. S., Kwon D. E., Kang Y. K. (2020). Investigation of suitable seed sizes, segregation of ripe seeds, and improved germination rate for the commercial production of hemp sprouts (*Cannabis sativa* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2819–2827.
21. Muzammal R., Fahad S., Guanghui D., Xia C., Yang T., Kailei T., Gang D. (2021). Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) as an industrial crop: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 52832-52843.
22. Nakov G. (2022). Quality characteristics of probiotic yoghurt enriched with honey and by-products left after the production of hemp oil by cold pressing the seeds of *Cannabis sativa* L. *Mljekarstvo*, 73(1), 3-11.
23. Nakov G., Trajkovska B., Atanasova-Pancevska N., Daniloski D., Ivanova N., Lučan Čolić M., Jukić M., Lukinac J. (2023). The Influence of the Addition of Hemp Press Cake Flour on the Properties of Bovine and Ovine Yoghurts. *Foods*, 12(5), 958.
24. PN-A-79011-15:1998. Koncentraty spożywcze - Metody badań - Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego.
25. PN-A-86061:2006. Mleko i przetwory mleczne - Mleko fermentowane.
26. PN-EN ISO 6579-1:2017-04. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalna metoda wykrywania, oznaczania liczby i serotypowania *Salmonella* - Część 1: Wykrywanie *Salmonella* spp.

27. PN-EN ISO 8968-1:2014-03. Mleko i przetwory mleczne – Oznaczenie zawartości azotu – Część 1: Zasada Kjeldahla i obliczanie białka surowego.
28. PN-ISO 4832:2007. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli – Metoda płytkowa.
29. PN-ISO 6611:2007. Mleko i przetwory mleczne – Oznaczenie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni – Metoda płytkowa w temperaturze 25 °C.
30. PN-ISO 7889:2007. Jogurt – Oznaczenie liczby charakterystycznych drobnoustrojów – Metoda liczenia kolonii w temperaturze 37 °C.
31. Ren Y., Liang K., Jin Y., Zhang M., Chen Y., Wu H., Lai F. (2016). Identification and characterization of two novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitory oligopeptides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein. *Journal of Functional Foods*, 26, 439–450.
32. Ropciuc S., Apostol L.C., Damian C., Prisacaru A.E. (2022). Effect of hemp seed oil addition on the rheological properties of dough and bread. *Applied Sciences*, 12(6), 2764.
33. Rupasinghe H. V., Davis A., Kumar S. K., Murray B., Zheljaskov V. D. (2020). Industrial hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) as an emerging source for value-added functional food ingredients and nutraceuticals. *Molecules*, 25(18), 4078.
34. Rusu I. E., Marc (Vlaic) R. A., Mureşan C. C., Mureşan A. E., Mureşan V., Pop C. R., Chiş M.S., Man S.M., Filip M.R., Onica B.M. (2021). Hemp (*Cannabis sativa* L.) flour-based wheat bread as fortified bakery product. *Plants*, 10(8), 1558.
35. Shokery E. S., El-Ziney M. G., Yossef A. H., Mashaly R. I. (2017). Effect of green tea and *Moringa* leave extracts fortification on the physicochemical, rheological, sensory and antioxidant properties of set-type yoghurt. *Journal of Advances in Dairy Research*, 5(179), 2.
36. Siano F., Moccia S., Picariello G., Russo G., Sorrentino G., Di Stasio M., La Cara F., Volpe M. (2018). Comparative study of chemical, biochemical characteristic and ATR-FTIR analysis of seeds, oil and flour of the edible fedora cultivar hemp (*Cannabis sativa* L.). *Molecules*, 24, 83.
37. Small E. (2015). Evolution and classification of *Cannabis sativa* (marijuana, hemp) in relation to human utilization. *The Botanical Review*, 81(3), 189–294.
38. Steinmetz F. P., Nahler G. Wakefield, J. C. (2023). How safe are hemp-based food products? A review and risk assessment of analytical data from Germany. *Nutrition & Food Science*, 53(3), 489–499.
39. Teterycz D., Sobota A., Przygodzka D., Łysakowska P. (2021). Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) enriched pasta: Physicochemical properties and quality evaluation. *PLoS One*, 16 (3), e0248790.
40. WHO. World Health Organization (2019). Cannabis. <https://www.who.int/>
41. Yan X., Tang J., dos Santos Passos C., Nurisso A., Simões-Pires C. A., Ji M., Lou H., Fan P. (2015). Characterization of Lignanamides from Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed and Their Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63, 10611–10619.

42. Zahari I., Ferawati F., Helstad A., Ahlström C., Östbring K., Rayner M., Purhagen J. K. (2020). Development of high-moisture meat analogues with hemp and soy protein using extrusion cooking. *Foods*, 9(6), 772.
43. Zhou Y., Wang S., Lou H., Fan P. (2018). Chemical constituents of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed with potential anti-neuroinflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, 23, 57–61.

## **The effect of hemp protein addition on physicochemical and organoleptic properties of yoghurts made from organic milk**

### **Abstract**

In the industry, hemp protein can be an alternative to powdered milk as an addition to yogurt. The aim of the paper was to evaluate the nutritional value, acidity, instrumentally assessed colour, as well as microbiological and organoleptic properties of yoghurts containing hemp protein. The yoghurts were prepared from organic cow milk using the thermostatic method. The starter yoghurt culture was FD-DVS YoFlex® YC-X11 (ChR Hansen) used at the ratio of 0.15 g/L of milk. Hemp protein was added at 1, 3, 5, 10, and 15% in the form of a powder, the control sample was yoghurt not containing the additive. With the growing presence of the additive, the content of total protein increased from 3.48 to 8.98% ( $p \leq 0.01$ ). The content of digestible carbohydrates, total fibre, and fat in the yoghurt also significantly ( $p \leq 0.01$ ) increased for the highest amount of the additive, as compared to the control product, which contributed to the overall better nutritional value of the yoghurts (96 kcal/100 g for yoghurt with 15% of hemp protein). The yoghurts received high scores in terms of total organoleptic quality ( $> 4$  pts), with the yoghurts containing up to 5% of the additive scoring the highest. The yoghurt containing the highest percentage of hemp protein scored poorly in terms of colour which was described as too green, which was reflected in the instrumental colour analysis. The proposed addition of hemp protein at a maximum level of 15% was not assessed positively in terms of organoleptic properties and therefore the optimal amount of hemp protein in yogurt was 3-5%.



# Porównanie właściwości antyoksydacyjnych oraz poziomu polifenoli ogółem i wolnych aminokwasów w czosnku surowym i czarnym otrzymanym w procesie skróconej fermentacji

Łukasz Byczyński<sup>1\*</sup>, Robert Duliński<sup>1</sup>, Adrian Karbowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Biotechnologii i Ogólnej Technologii Żywności

<sup>2</sup>Algitect

\*Autor korespondencyjny: byczynski.lukasz@urk.edu.pl

## Streszczenie

Czosnek cechuje się licznymi właściwościami prozdrowotnymi, które zawdzięcza obecności m.in. związków siarkowych, w tym alliiny, S-allillocysteiny (SAC) oraz wysokiej zawartości związków polifenolowych. Ograniczeniem w jego stosowaniu, zarówno w celach biomedycznych, jak i kulinarnych, jest charakterystyczny ostry smak i zapach. W celu wyeliminowania tego problemu, czosnek można poddać niskotemperaturowej obróbce termicznej zwanej starzeniem, która prowadzi do zmiany jego barwy i otrzymania tzw. czarnego czosnku. W wyniku tego procesu następuje hydroliza poli- i oligosacharydów (fruktany) z udziałem wewnątrzkomórkowych enzymów (fermentacja) oraz powstają produkty reakcji Maillarda. Celem badań było porównanie właściwości antyoksydacyjnych oraz poziomu polifenoli ogółem i wolnych aminokwasów czterech odmian czosnku surowego i czarnego. Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem komercyjnego urządzenia do przeprowadzenia skróconej fermentacji firmy TIROSS model TS906 (TIROSS, Polska sp. z o.o.). Proces przebiegał w temperaturze 70 °C, w czasie 192 godzin. Ilość wolnych aminokwasów oznaczano metodą z ninhydriną, zawartość polifenoli ogółem oznaczono metodą z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, a właściwości antyoksydacyjne z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH. Otrzymane wyniki wskazują na wzrost aktywności antyoksydacyjnej, sumy polifenoli oraz zmniejszenie poziomu wolnych aminokwasów w czosnku otrzymanym po procesie starzenia.

**Słowa kluczowe:** czarny czosnek, polifenole, antyoksydanty, wolne aminokwasy

## 1. Wprowadzenie

Ludzkość wykorzystuje odżywcze i prozdrowotne właściwości czosnku zwyczajnego (*Allium sativum* L.) od tysiącleci (Najman i in. 2022, Nassur i in. 2017). Przypisuje mu się właściwości antybakteryjne i już w starożytności stosowano go jako lek na różne infekcje, wzdęcia, a także rany i choroby skóry (Milner 2005, Ryu i Kang, 2017). Swoje właściwości prozdrowotne czosnek zawdzięcza m.in. obecności związków siarkowych, w tym alliiny, S allillocysteiny (SAC) oraz wysokiej zawartości związków polifenolowych oraz fruktanów (Chua i in. 2022, Soto et al. 2016). Jednak ograniczeniem w jego stosowaniu, zarówno w zastosowaniach biomedycznych, jak i kulinarnych jest charakterystyczny i nieakcepto-

walny przez niektórych konsumentów ostry smak i zapach (Qiu et al. 2020). Aby wyeliminować ten problem, czosnek można poddać specyficznej, niskotemperaturowej obróbce termicznej zwanej starzeniem, która prowadzi do zmiany jego barwy i otrzymania tzw. czarnego czosnku. W wyniku tego procesu dochodzi do hydrolizy poli- i oligosacharydów (głównie fruktanów) z udziałem wewnątrzkomórkowych enzymów (fermentacja) oraz tworzenia produktów reakcji Maillarda (kondensacja cukrów z aminami). W wyniku tych procesów istotnie wzrasta aktywność antyoksydacyjna produktu i spada wartość pH z około 6-7 do 4,5-5 po 8 dniach i do 4 po 12 i więcej dniach inkubacji (Bedrníček i in. 2021, Choi i in., 2014, Chua i in. 2022). W trakcie tych przemian allicyna odpowiedzialna za intensywny zapach czosnku podlega kondensacji ze związkami siarkowymi pochodzącymi z rozpadu  $\gamma$ -glutamylcysteiny (Ammelia i in. 2020). Wykazano, że S-allilocysteina oraz związki siarkoorganiczne mogą zapobiegać proliferacji komórek nowotworowych (Lin i in. 2020, Moreno-Ortega i in. 2020). Ekstrakty z czarnego czosnku są bogate w S-allilolcysteinę (SAC) i wzmacniają odporność komórkową, zwiększając aktywność komórek limfocytów typu NK (ang. „natural killers”), odgrywających istotną rolę w zwalczaniu komórek nowotworowych (Sasaki i in. 2007, Wang i in. 2012). Prawdopodobnie to przeciwnowotworowe działanie wynika z aktywności antyoksydacyjnej oraz obecności składników o właściwościach immunomodulujących. Istotny wpływ na jego właściwości przeciwutleniające mają związki aminokwasów z cukrami powstające w reakcjach Maillarda, w tym te o silnym działaniu, powstające z udziałem cysteiny i tyrozyny (Chua i in. 2022, Yuan i in. 2018).

Aktywność antyoksydacyjna czarnego czosnku wzrasta najszybciej między 7 a 21 dniem fermentacji, natomiast po przekroczeniu 35 dnia zaczyna się zmniejszać. Jest ona skorelowana ze wzrostem zawartości sumy polifenoli (Choi i in. 2014). Do 21 dnia przemiany suma polifenoli potrafi ulec sześciokrotnemu zwiększeniu. Uważa się, że odpowiedzialny za to jest rozpad frakcji glikozydowych związanych z estrami do wolnych form fenoli. Z tego względu Choi in. (2014) zaproponowali, że optymalny czas starzenia dla maksymalizacji tego parametru powinien wynosić 21 dni. Autorzy w swoich badaniach odnotowali wzrost neutralizacji rodników DPPH z ok. 5% (czosnek surowy) do 37% po 7 dniach i 75% po 21 dniach inkubacji. Z kolei Tomf-Sarna i in. (2017) odnotowali w czarnym czosnku otrzymanym z odmiany Jarus prawie pięciokrotny wzrost właściwości przeciwutleniających po 30 dniach fermentacji.

Ciemny kolor czarny czosnek zawdzięcza głównie powstawaniu melanoidyn w reakcjach Maillarda, co związane jest z ubytkiem aminokwasów. Największy wpływ na brązowienie ma obecność histydyny, która hamuje działanie kwasów i wykazuje wyższą aktywność w reakcjach z cukrami redukującymi (Liu i in. 2019, Yuan i in. 2018). Chua i in. (2022) wskazują, że podczas starzenia czosnku degradacji ulegają głównie takie aminokwasy, jak np. arginina, tyrozyna i tryptofan, natomiast powstają nietypowe, jak: leucyloprolina i N,N-dietylotrytamina. Z kolei Choi i in. (2014) obserwowali wzrost poziomu aminokwasów hydrofobowych: leucyny, izoleucyny, fenyloalaniny i metioniny.

W wyniku procesu starzenia zwiększa się stężenie polifenoli, flawonoidów, pirogroninów, S-allilocysteiny, cukrów prostych i składników mineralnych (Słupski i in. 2020). W efekcie całego procesu zmienia się nie tylko barwa, ale również konsystencja, smak i zapach czosnku (Amelia 2020, Chua i in. 2022, Sun i Wang, 2018). Czosnek ma brązowy lub czarny kolor oraz łagodny, przyjemny słodko-kwaśny smak, miękką, galaretowatą konsystencję oraz przyjemny zapach (Słupski i in. 2020). Dodatkowo charakteryzuje się łagodniejszym oddziaływaniem na żołądek i wykazuje wysokie stężenie antyoksydantów (Afzaal 2021, Ryu i Kang 2017). Wykazano, że czarny czosnek może przeciwdziałać rozwojowi nie tylko chorób nowotworowych, ale też układu sercowo-naczyniowego (Liu i in. 2018, Moreno-Ortega i in. 2020). Okazuje się jednak, że jego działanie przeciwzkrzepowe, przeciwzapalne, immunomodulujące i przeciwalergiczne jest mniejsze niż w wyjściowym materiale (Ryu i Kang 2017).

Otrzymany po procesie starzenia produkt można spożywać bezpośrednio jako samodzielne danie lub jako dodatek (część) do potraw, np. rozsmarowany na chlebie, jako składnik past, kremów, przecierów, dodatek do napojów oraz jako przyprawa do innych dań (Tomf-Sarna i in. 2017). Czarny czosnek na większą skalę zaczęto produkować niedawno i znany jest bardziej na Dalekim Wschodzie. Jednak z uwagi na to, że roślina ta jest uprawiana również w Europie, można liczyć na zainteresowanie tego typu produktem z konsumentów również w Polsce.

Czarny czosnek można otrzymać metodami domowymi, jednak proces jego otrzymywania jest długi, bowiem trwa od kilkunastu do kilkudziesięciu dni i przebiega w zakresie temperatur od 60 do 90 °C, przy kontrolowanej wilgotności 70-90% (Afzaal i in. 2021, Kimura i in. 2017). W celu zmniejszenia kosztocłonności procesu, zmodyfikowano powszechnie stosowane na Dalekim Wschodzie urządzenie do gotowania ryżu i na jego bazie otrzymano aparat do przeprowadzania skróconej fermentacji czosnku. Zazwyczaj tego typu sprzęty wyposażone są w aluminiową komorę, w której umieszcza się na specjalnej, wyjmowanej tacce główki czosnku, a całość zamyka się uszczelnioną pokrywą z zaworem odprowadzającym nadmiar wilgoci. Z punktu widzenia użytkownika, kontrola procesu odbywa się jedynie poprzez uruchomienie jednego z dwóch programów. Pierwszy dotyczy standardowego czosnku (192 godziny), drugi rzadko spotykanego w Polsce czosnku jednoząbkowego tzw. „solo garlic” (288 godzin). Dodatkowo, po zakończeniu właściwego procesu, produkt można jeszcze poddać procesowi dodatkowego suszenia. Sun i Wang (2018) wskazują, że zastosowanie niższej temperatury procesu (75 °C), wysokiej wilgotności (85%) oraz skrócenie czasu trwania starzenia do 8 dni sprzyja zachowaniu składników odżywczych, a tym samym utrzymaniu aktywności biologicznej składników przez czosnek. Z kolei Chua i in. (2022) wskazują, że około 8 dnia fermentacji następuje istotny spadek pH i wzrost syntezy 5-hydroksy-metylofurfuralu (HMF), który wykazuje właściwości antyoksydacyjne i przyczynia się do postępujących reakcji Maillarda (nieenzymatycznego brunatnienia żywności). Jest to pięciowęglowy cykliczny aldehyd powstający z monosacharydów w warunkach kwaśnych i podwyższonej temperaturze, dlatego jego stężenie istotnie

wzrasta przy pH poniżej 5. Wysokie stężenie HMF jest cytotoksyczne, w tym mutagenne i kancerogenne (Surh 1994), dlatego skrócenie procesu starzenia może być bardzo zasadne.

Celem pracy było porównanie właściwości antyoksydacyjnych, poziomu polifenoli ogółem i wolnych aminokwasów w czosnku surowym oraz w czosnku czarnym otrzymanym w skróconym procesie fermentacyjnym trwającym 8 dni (192 h).

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Materiał badany**

Materiałem do badań były świeże i otrzymane w procesie starzenia ząbki czosnku odmian polskich (Harnaś i Orlik) oraz hiszpańskich (Violetta i Morado). Materiał zakupiono w lokalnych sklepach. Dodatkowo pozyskano odmianę Harnaś z uprawy ekologicznej. Czarny czosnek otrzymano metodą skróconej fermentacji w temperaturze 70 °C w czasie 192 godzin z wykorzystaniem urządzenia Tiross model TS906 (TIROSS, Polska). Następnie zarówno czarny, jak i surowy czosnek obrano i rozdrobniono. W takiej postaci wykorzystano go do oznaczenia suchej masy oraz wykonania ekstraktów przeznaczonych do dalszych analiz.

### **2.2. Metody badań**

W celu oznaczenia poziomu suchej masy odważano 3-5 g badanego materiału, który poddano suszenia w temp. 105 °C do stałej masy.

Do ekstrakcji związków aktywnych odważano po 1 g próbki do naczyń szklanych wykonanych z ciemnego szkła i zalewano 89 ml mieszaniny ekstrakcyjnej składającej się z acetonu i wody, w stosunku 1:1. Następnie po zamknięciu próbki wytrząsano przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, po czym zlewano płyn z nad osadu. Osad w naczyniach poddano ponownej ekstrakcji za pomocą 10 ml mieszaniny ekstrakcyjnej w czasie 30 minut, a następnie połączone ekstrakty przesączono i wykorzystano do analizy aktywności antyoksydacyjnej, polifenoli ogółem oraz wolnych aminokwasów. Dla każdego rodzaju badanego materiału wykonano trzy osobne ekstrakty, które następnie analizowano w trzech powtórzeniach.

Pomiaru aktywności antyoksydacyjnej dokonano z zastosowaniem metanolowego (80%) roztworu DPPH o stężeniu 0,1 mmol/dm<sup>3</sup>. Do kuwety pobierano po 0,2 ml ekstraktu próbki i 2,8 ml DPPH. Próbki umieszczano w ciemności na 30 minut. Po tym czasie wykonano pomiar przy długości fali 516 nm, względem 80% metanolu. Zdolność do zmiatania rodników hydroksylowych (%) obliczono ze wzoru:  $((A_0 - A_1)/A_0) \times 100$ , gdzie A<sub>0</sub> to absorbancja próby kontrolnej, a A<sub>1</sub> to absorbancja próbki. Wyniki wyrażono również jako w mg Troloxu na gram próbki.

Poziom polifenoli ogółem oznaczano w reakcji 0,1 i 0,2 ml ekstraktu w 5 ml wody z 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteu. Po 5 minutach próbki neutralizowano 0,5 ml 25% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Pomiarów spektrofotometrycznych dokonywano po 30 minutach od dodania węglanu przy długości fali 765 nm. Dodatkowo wykonano pomiary wzorców, a wyniki wyrażono jako mg ekwiwalentu kwasu galusowego na gram próbki (mg GAE/g).

Ilościowego oznaczenia wolnych aminokwasów dokonano z wykorzystaniem ninhydryny. Do 0,5 ml mieszaniny ekstrakcyjnej zawierającej 25  $\mu$ l próbki dodawano 0,5 ml 0,4 M buforu octanowego o pH 5,5 oraz 2 ml odczynnika ninhydrynowego. Podobnie przygotowywano wzorce glicyny. Wszystkie próbki i wzorce umieszczano we wrzącej łaźni wodnej na 5 minut, następnie próbki schładzano i dodawano 6 ml 50% etanolu. Pomiarów absorbancji dokonywano przy długości fali 570 nm.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA) w celu zbadania istotności różnic między średnimi. Obliczono LSD dla poziomu istotności  $p < 0,05$ . Analizy wykonano z zastosowaniem programu Statgraphics Centurion 18 (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, Virginia, USA).

### 3. Wyniki i dyskusja

Poziom oznaczonych parametrów w surowym i czarnym czosnku przedstawiono w tabeli 1. Proces starzenia spowodował zmniejszenie wilgotności produktu o 21%. Pomimo skrócenia czasu fermentacji produkt charakteryzował się wyższym poziomem aktywności antyoksydacyjnej, w porównaniu z czosnkiem surowym. Oznaczony procent inhibicji w przypadku czarnego czosnku był znacznie wyższy niż w odniesieniu do czosnku surowego i wyniósł prawie 79%. Aktywność antyoksydacyjna wzrosła prawie czterokrotnie, a zawartość polifenoli ogółem - pięciokrotnie. Zmniejszyła się natomiast ponad dwukrotnie ilość wolnych aminokwasów. Liu i in. (2018) ubytek wolnych aminokwasów wyjaśniają ich udziałem w reakcjach Maillarda. Choi i in. (2014) uzyskali po 7 dniach inkubacji prawie dwukrotnie wyższą zawartość polifenoli ogółem oraz o 25% wyższą zawartość wolnych aminokwasów, przy czym cytowani autorzy zastosowali inną metodę ekstrakcji oraz metodę chromatograficzną. Ponadto otrzymany przez nich czarny czosnek charakteryzował się niższą wilgotnością (33%). Z kolei w badaniach Chua i in. (2022) w trakcie 8-dniowego procesu starzenia wilgotność zmniejszyła się jedynie o 4%. W badaniach Bedrńček i in. (2021) po 15 dniach inkubacji wilgotność obniżyła się z 60% do 38%. W związku z powyższym można zauważyć, że czarny czosnek może istotnie różnić się właściwościami, nie tylko ze względu na rozbieżności w zastosowanych metodach, ale także ze względu na charakterystykę prowadzonego procesu starzenia (obecność faz o zróżnicowanej temperaturze i wilgotności), a także ze względu na odmianę i stan czosnku (świeży, podsuszony etc.).

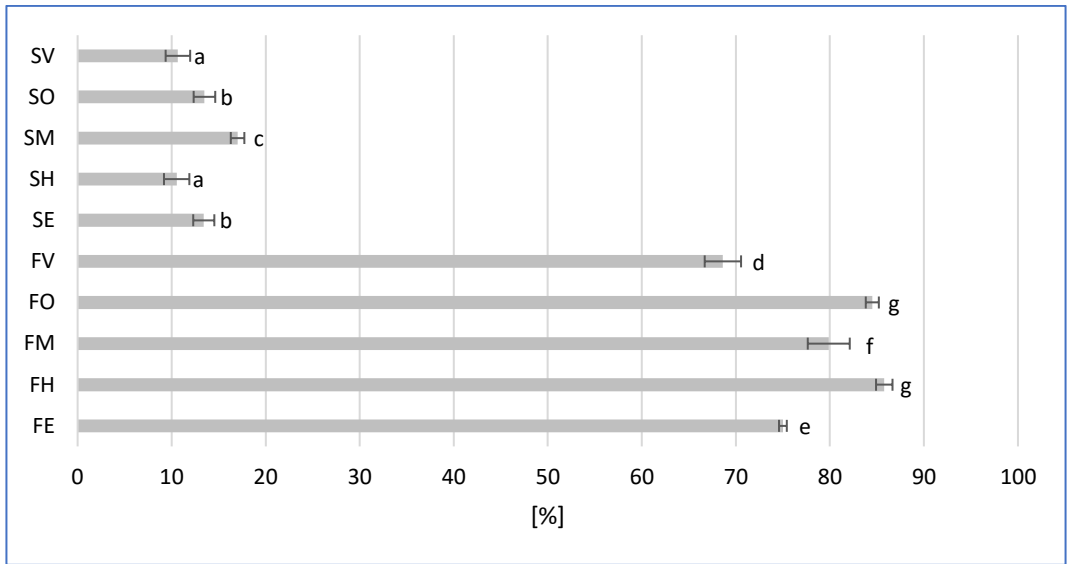
**Tabela 1.** Poziom wilgotności, aktywności antyoksydacyjnej, polifenoli ogółem oraz wolnych aminokwasów w czosnku surowym i czarnym

Parametr	Czosnek surowy	Czosnek czarny
Wilgotność (%)	62,28 <sup>b</sup> ± 2,74	40,99 <sup>a</sup> ± 4,70
Inhibicja rodnika DPPH (%)	13,02 <sup>a</sup> ± 2,64	78,76 <sup>b</sup> ± 6,67
Aktywność antyoksydacyjna (mg Troloxu/g s.m.)	6,52 <sup>a</sup> ± 1,14	24,70 <sup>b</sup> ± 3,10
Polifenole ogółem (mg GAE/g s.m.)	3,03 <sup>a</sup> ± 1,59	15,97 <sup>b</sup> ± 2,97
Wolne aminokwasy (mg glicyny/g s.m.)	33,53 <sup>b</sup> ± 10,75	13,73 <sup>a</sup> ± 4,23

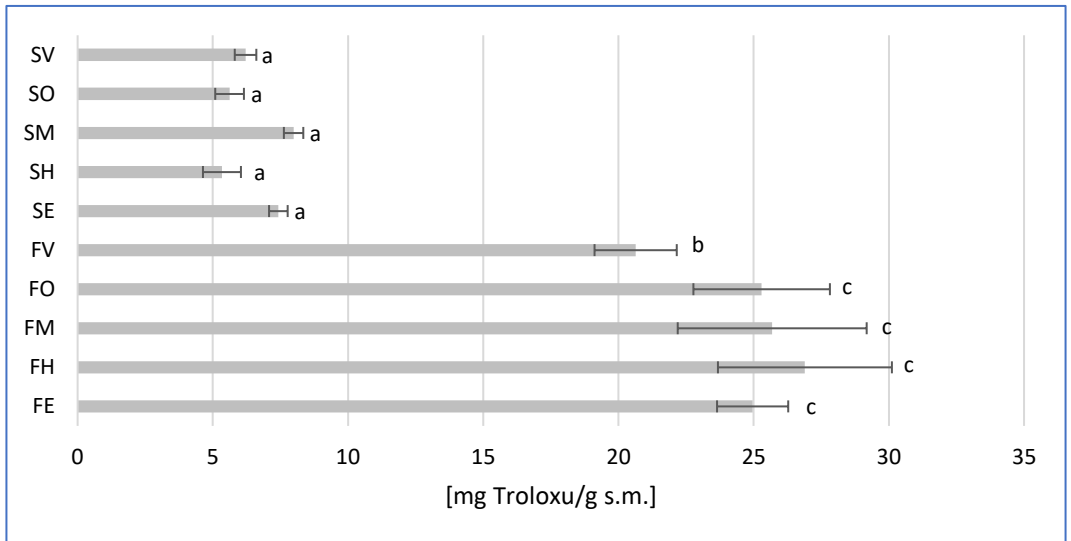
Objaśnienia: Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ( $p < 0,05$ ).

W dalszej części pracy przedstawiono różnice pomiędzy badanymi odmianami oraz czosnkiem surowym i fermentowanym (rys. 1 i 2). Niższym poziomem inhibicji rodnika DPPH charakteryzował się czosnek surowy niż czarny. Wśród odmian czosnku surowego najmniejszą inhibicję wykazano w przypadku odmiany Harnaś i Violetta, a najwyższą w odmianie Morado. Proces starzenia spowodował 6-krotny, a nawet 7-krotny wzrost aktywności antyoksydacyjnej, niezależnie od odmiany. W tym wypadku najwyższe wartości uzyskano dla odmiany Harnaś i Orlik (ok. 85% wygaszenia rodnika DPPH), a najniższe dla odmiany Violetta (68%). Choi i in. (2014) po 7 dniach fermentacji czosnku obserwowali 40% poziom inhibicji, natomiast po 21 dniach wykazali wartości bliskie 80%.

Poszczególne odmiany czosnku surowego charakteryzowały się zbliżonym i niskim poziomem aktywności antyoksydacyjnej (poniżej 10 mg) (rys. 2). Proces starzenia spowodował wzrost wartości tego parametru do około 25 mg Troloxu/g s.m. w odmianach Harnaś (eko), Harnaś, Morado i Orlik oraz do około 20 mg w odmianie Violetta. Podsumowując, fermentacja zastosowanych odmian spowodowała minimum 3-4 krotny wzrost poziomu aktywności antyoksydacyjnej. W swoich badaniach Nassur i in. (2017) odnotowali 5-krotny wzrost aktywności antyoksydacyjnej w ciągu 22 dni procesu starzenia czosnku, Tomf-Sarna i in. (2017) wykazali około 5-krotny wzrost w ciągu 30 dni polskiej dla odmiany Jarus, a Bedrńicek in. (2021) odnotowali wzrost poziomu antyoksydantów średnio z 2 do 13 mg Troloxu/g s.m. po 15 dniach starzenia.



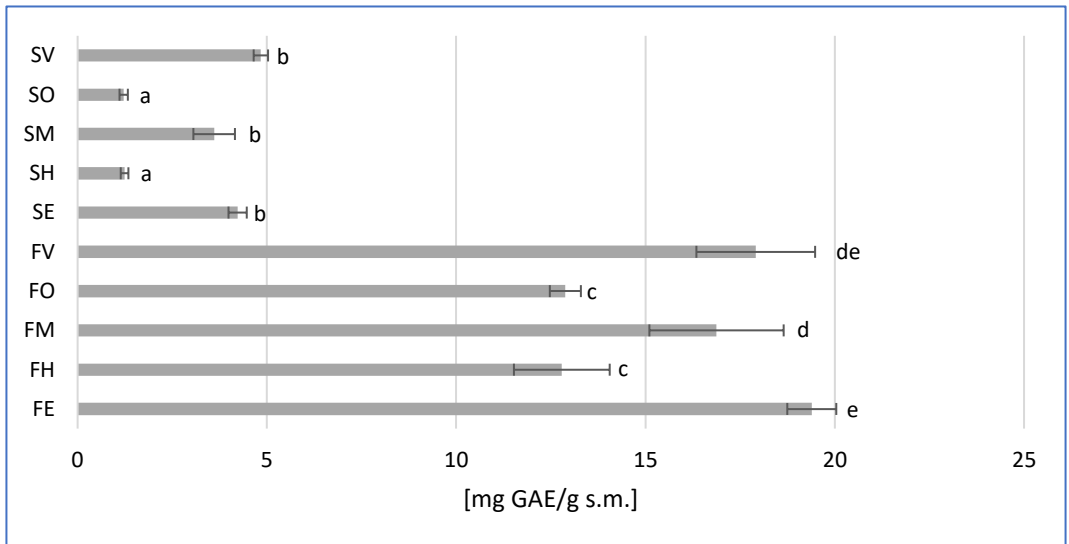
**Rysunek 1.** Poziomy inhibicji (%) wolnego rodnika DPPH w czosnku surowym i czarnym  
 Objasnienia: S – czosnek surowy, F – czosnek czarny (fermentowany), E – odmiana ekologiczna „Harnaś”, H – odmiana komercyjna „Harnaś”, M – odmiana „Morado”, O – odmiana „Orlik”; V – odmiana „Violetta”;  
 średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ( $p < 0,05$ ).



**Rysunek 2.** Porównanie aktywności antyoksydacyjnej czosnku surowego i czarnego  
 Objasnienia: jak na rysunku 1

Zawartość polifenoli ogółem w czosnku zaprezentowano na rysunku 3. W przypadku czosnku surowego najniższymi wartościami odznaczała się odmiana Harnaś (1,24 mg GAE/g) i Orlik (1,22 mg GAE/g), dla pozostałych odmian wartości oscylowały pomiędzy 3,6 a 4,8 mg GAE/g. Podobne wyniki otrzymali Yuan i in. (2016), Sun i in. (2018) oraz Bedrńicek i in. (2021). Są jednak prace wskazujące, że w surowym czosnku jest aż 23-25 mg polifenoli

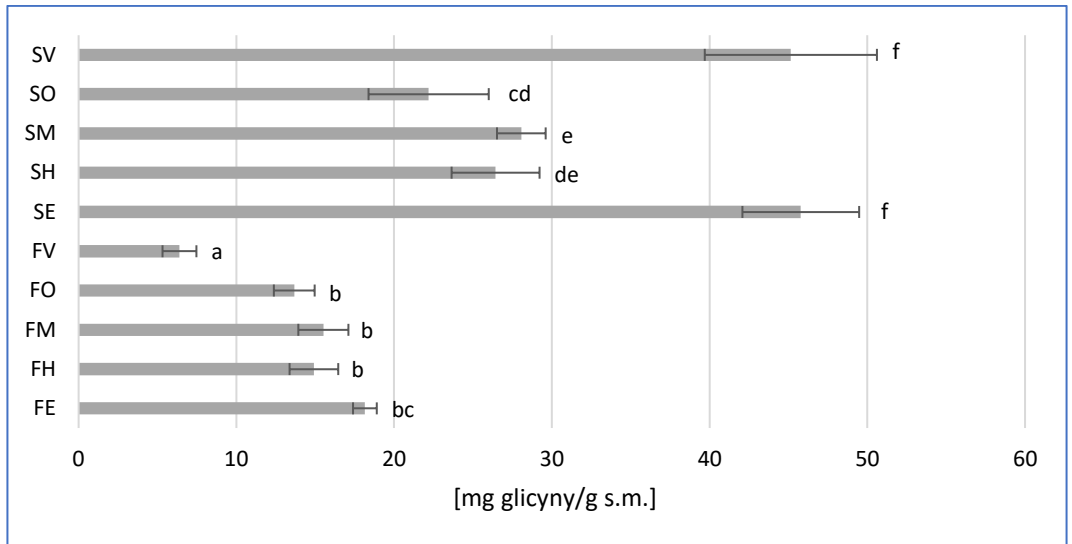
ogółem w przeliczeniu GAE/g, a różnice mogą wynikać z zastosowanej metody ekstrakcji (Soto et al. 2016). Proces starzenia spowodował co najmniej 4-krotne zwiększenie ilości polifenoli ogółem, a w odmianach Harnaś i Orlik nawet 10-krotne. Do podobnych wniosków doszli Kimura i in. (2017). Największą sumę fenoli (19,39 mg GAE/g) wykazano dla odmiany Harnaś (eko). Choi i in. (2014) po 7 dniach starzenia czosnku odnotowali 25,81 mg polifenoli ogółem w przeliczeniu na GAE/g, a Bedrńček in. (2021) po 15 dniach starzenia wykazali 14,03 mg.



**Rysunek 3.** Porównanie poziomów polifenoli (mg GAE/g s.m.) w czosnku surowym i czarnym  
 Objaśnienia: jak na rysunku 1

Oznaczony poziom wolnych aminokwasów w ekstraktach z czosnku surowego i czarnego badanych odmian przedstawiono na rysunku 4. Tak jak zakładano, z uwagi na postępujące reakcje Maillarda, odnotowano zmniejszenie zawartości tych związków po przeprowadzonym procesie starzenia. Czosnek surowy odmian Harnaś (eko) i Violetta charakteryzował się wyjściowo najwyższym poziomem wolnych aminokwasów (około 45 mg glicyny/g s.m.) oraz jednocześnie najwyższymi stratami tych związków po procesie starzenia. Choi i in. (2014) opisywali zmniejszenie zawartości aminokwasów w czasie procesu starzenia czosnku. Zdaniem cytowanych autorów spośród 16 badanych aminokwasów, poziom 12, tj. alaniny, argininy, cysteiny, glicyny, kwasu asparginowego, kwasu glutaminowego, lizyny, histydyny, seryny, treoniny, tyrozyny i waliny ulegał zmniejszeniu. Poziom niektórych aminokwasów wzrastał, a były to aminokwasy hydrofobowe: leucyna, izoleucyna, fenyloalanina i metionina.





**Rysunek 4.** Porównanie poziomów wolnych aminokwasów (mg glicyny/g s.m.) w czosnku surowym i czarnym

Objaśnienia: jak na rysunku 1

Zmniejszenie poziomu aminokwasów w czasie starzenia może być związane z reakcjami Maillarda, które zachodzą pomiędzy grupami aminowymi aminokwasów i grupami karbonyłowymi cukrów redukujących. Cysteina i tyrozyna tworzą z cukrami związki o silnym charakterze antyoksydacyjnym, stąd produkty reakcji mogą mieć istotny udział w aktywności antyoksydacyjnej czarnego czosnku. Yuan i in. (2016) wskazują, że w trakcie fermentacji następuje redukcja poziomu fruktanów o 85% do 99%, w tym czasie zawartość cukrów rozpuszczalnych wzrastała nawet ośmiokrotnie. Warto odnotować, że ze względu na budowę fruktanów, wzrost ilości monosacharydów powstających z ich rozpadu dotyczył głównie fruktozy, a w mniejszym stopniu glukozy (Martínez-Casas i in. 2017). Również Choi i in. (2014) wykazali, że w czasie 21 dni fermentacji poziom cukrów redukujących wzrastał nawet dziesięciokrotnie.

#### 4. Wnioski

1. Proces starzenia czosnku prowadził do wzrostu jego właściwości antyoksydacyjnych oraz zmniejszenia ilości wolnych aminokwasów.
2. Odmiana czosnku miała wpływ na jego właściwości antyoksydacyjne, poziom polifenoli ogółem oraz wolnych aminokwasów, przy czym nie zawsze był on istotny statystycznie.

*Źródło finansowania: badanie zamawiane BZ-4760 WTŻ UR*

## Literatura

1. Afzaal M., Saeed F., Rasheed R., Hussain M., Aamir M., Hussain S., Mohamed A.A., Alamri M.S., Anjum F.M. (2021). Nutritional, biological, and therapeutic properties of black garlic: a critical review. *International Journal of Food Properties*, 24, 1387-1402.
2. Ammelia S.M., Suharti Retnosari R., Utomo Y., Sukarianingsih D., Wonorahardjo S. (2020). The changing profiles of organosulfuric compounds during black garlic processing. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 475, 012037.
3. Bedrníček J., Laknerová I., Lorenc F., Moraes P., Jarošová M., Samková E., Tříška J., Vrchotová N., Kadlec J., Smetana P. (2021). The use of a thermal process to produce black garlic: differences in the physicochemical and sensory characteristics using seven varieties of fresh garlic. *Foods*, 10(11), 2703-2720.
4. Choi I.S., Cha H.S., Lee Y.S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19, 16811-16823.
5. Chua L.S., Abdullah F.I., Lim S.H. (2022). Physicochemical changes and nutritional content of black garlic during fermentation. *Applied Food Research*, 2, 1-8.
6. Kimura S., Tung Y., Pan M., Su N., Lai Y., Cheng K. (2017). Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 62-70.
7. Lin W.S., Lai Y.J., Kalyanam N., Ho C.T., Pan M.H. (2020). S-Allylcysteine inhibits PHP/DSS-induced colon carcinogenesis through mitigating inflammation, targeting Keap1, and modulating microbiota composition in mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64 (23), 2000576.
8. Liu P., Lu X., Li N., Zheng Z., Zhao R., Tang X., Qiao X. (2019). Effects and mechanism of free amino acids on browning in the processing of black garlic. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4670-4676.
9. Liu J., Zhang G., Cong X., Wen C., (2018). Black garlic improves heart function in patients with coronary heart disease by improving circulating antioxidant levels. *Frontiers in Physiology*, 9, 1-11.
10. Martínez-Casas L., Lage-Yusty M., López-Hernández J. (2017). Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 10804-10811.
11. Milner J. (2005). Garlic (*Allium sativum*). W: *Encyclopedia of Dietary Supplements*. Marcel Dekker: New York, NY, USA, 239-240.
12. Moreno-Ortega A., Pereira-Caro G., Ordóñez J.L.O., Moreno-Rojas R., Ortíz-Somovilla V. (2020). Bioaccessibility of bioactive compounds of 'fresh garlic' and 'black garlic' through in vitro gastrointestinal digestion, *Foods*, 9(11), 1582.
13. Najman K., Król K., Sadowska A. (2022). The physicochemical properties, volatile compounds and taste profile of black garlic (*Allium sativum* L.) cloves, paste and powder. *Applied Sciences – Organic and Sustainable Food Production*, 12, 1-19.

14. Nassur De C. M.R.R., de Barros Vilas Boas E.V., Vilela Resende F. (2017). Black garlic: transformation effects, characterization and consumer purchase intention. *Comunicata Scientiae*, 8(3), 444.
15. Qiu Z., Zheng Z., Zhang B., Sun-Waterhouse D., Qiao X. (2020). Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic components in black garlic: A review for maximizing the goodness to humans. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 801-834.
16. Ryu J.H., Kang D. (2017). Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. *Molecules*, 22(919), 1-14.
17. Sasaki J., Lu C., Machiya E., Tanahashi M., Hamada K. (2007). Processed black garlic (*Allium sativum*) extracts enhance anti-tumor potency against mouse tumors. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(2), 278-281.
18. Słupski J., Tomf-Sarna A., Venugopal K., Skoczeń-Słupska R. (2020). Czarny czosnek – produkt o łagodnym smaku. Żywność a oczekiwania współczesnego konsumenta, Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, s. 426, ISBN 978-83-66602-10-6
19. Soto V.C., González R.E., Sance M.M., Galmarini C.R. (2016). Organosulfur and phenolic content of garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) and its relationship with antioxidant activity. *Acta Horticulturae*, 1143, 277-290.
20. Sun Y.E., Wang W. (2018). Changes in nutritional and bio-functional compounds and antioxidant capacity during black garlic processing. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 479-488.
21. Surh Y. J., Liem A., Miller J. A., Tannenbaum S.R. (1994). 5-Sulfooxymethylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxymethylfurfural. *Carcinogenesis*, 15(10), 2375-2377.
22. Tomf-Sarna A., Słupski J., Zegartowska P., Skoczeń-Słupska R., Stojak M. (2017). Wpływ odmiany na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą czarnego czosnku. *Poszerzamy Horyzonty. Tom IV*, 166-174.
23. Wang X., Jiao F., Wang Q., Wang J., Yang K., Hu R., Liu H., Wang H., Wang Y. (2012). Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo. *Molecular Medicine Reports*, 5, 66-72.
24. Yuan H., Sun L., Chen M., Wang J., (2018). An analysis of the changes on intermediate products during the thermal processing of black garlic. *Food Chemistry*, 239, 56-61.
25. Yuan H., Sun L., Chen M., Wang J. (2016), The comparison of the contents of sugar, Amadori, and Heyns compounds in fresh and black garlic. *Journal of Food Science*, 81(7), 1662-1668.

## **Comparison of antioxidant properties and the content of total polyphenols and free amino acids in raw and black garlic obtained in the shortened fermentation process**

### **Abstract**

Garlic has numerous health-promoting properties: the presence of sulfur compounds, like allyllin or S-allylcysteine (SAC) and high content of polyphenol compounds. However, its' limitation in use in both biomedical and culinary applications is characteristic taste and smell, which is repulsive to some consumers and often causes gastric problems. To eliminate this problem, garlic can be subjected to a specific low-temperature thermal treatment called aging, which leads to a change in its color and obtaining the so-called black garlic. As a result of this process, poly- and oligosaccharides (fructans) are hydrolyzed with the participation of intracellular enzymes (fermentation) and the formation of Maillard reaction products. The aim of the study was to compare the antioxidant properties and the level of total phenolic content and free amino acids of four varieties of garlic. The experiments were carried out using a commercial device for shortened fermentation by TIROSS, model TS906 (TIROSS, Polska sp. z o.o.). The process took place at a temperature of 70 °C for 192 hours. The amount of released amino acids was determined using the ninhydrin method, the polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, and the antioxidant properties were determined using the DPPH free radical. The obtained results indicate an increase in antioxidant activity, total phenolic content and a decrease in the level of free amino acids in garlic obtained after the aging process.

# Wpływ ekstraktu z chaga (*Inonotus obliquus*) na wybrane mikroorganizmy patogenne i bakterie kwasu mlekowego w warunkach *in vitro*

Iwona Drożdż\*, Gabriela Ostrowska

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

\*Autor korespondencyjny: iwona.drozd@urk.edu.pl

## Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu ekstraktów z błyskoporka podkorowego (chagi) na wzrost wybranych patogenów (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*) oraz bakterii kwasu mlekowego (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Levilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*). Do analiz wykorzystano ekstrakty z dwóch rodzajów owocników chagi w dwóch stężeniach każdy oraz ich suplement. Żaden z badanych ekstraktów nie wykazał hamującego wpływu na wzrost *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*. Jeśli chodzi o wzrost bakterii kwasu mlekowego, ekstrakt z owocnika *Inonotus obliquus* pochodzącego ze Storö wykazał stymulujący wpływ na wzrost *Levilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus casei*. Ekstrakt z owocnika *Inonotus obliquus* pochodzącego z Noren oraz suplement chagi For-Meds wpływał stymulująco na wzrost wszystkich badanych bakterii mlekowych. Największy potencjał stymulujący wzrost bakterii *Levilactobacillus brevis* (ACTT 14869) i *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ATCC 7469) wykazał ekstrakt z błyskoporka 1, natomiast błyskoporek 2 najbardziej stymulował wzrost *Lactobacillus acidophilus* LA-5 i *Lacticaseibacillus casei* (ATCC 393).

**Słowa kluczowe:** błyskoporek podkorowy, chagi, bakterie mlekowe, mikrobiota, patogeny

## 1. Wprowadzenie

Bakterie kwasu mlekowego, rośliny czy grzyby o potencjale leczniczym są przedmiotem nieustannych badań. Zainteresowania budzą przede wszystkim związki aktywne przez nie produkowane. Badania ostatnich lat wskazują na istotne powiązanie pomiędzy ośrodkowym układem nerwowym, a przewodem pokarmowym, szczególnie mikrobiomem. Fakt ten już zmienia podejście naukowców, lekarzy i dietetyków do różnych jednostek chorobowych i sposobów ich leczenia. W te tematy wpisują się badania nad wzajemnymi interakcjami pomiędzy substancjami aktywnymi roślin i grzybów stosowanych jako leki lub suplementy diety, a bakteriami zasiedlającymi nasz przewód pokarmowy, m.in. bakteriami mlekowymi i probiotykami oraz patogenami.

Przedmiotem badań był błyskoporek podkorowy (*Inonotus obliquus*), znany w Polsce pod wieloma nazwami, np. jako chagi lub huba brzoza. Grzyb ten należy do podstaw-

czaków (*Basidiomycota*). Występuje w chłodnych lasach północnej Europy, Azji oraz Ameryki Północnej. Jest pasożytem brzozy i innych drzew liściastych (Brydon-Williams i in. 2021, Szczepkowski i in. 2013b, Zheng i in. 2010). Jego, strzępki rozkładają drewno pni żywych drzew, powodując ich przedwczesne obumieranie (Szczepkowski i in. 2013a). Do celów leczniczych wykorzystuje się tylko sklerocja (rys. 1). Sklerocja uzyskują dojrzałość dopiero po 3-4 latach, a więc rosną bardzo długo. W Polsce *Inonotus obliquus* jest objęty częściową ochroną (Piętka i Grzywacz 2006, Szczepkowski i in. 2013b).

Owocniki *Inonotus obliquus* zawierają białko, tłuszcz, składniki mineralne, cukry redukujące, przy czym 67,5% suchej masy stanowi włókna surowe, a 10,3% polisacharydy. Sklerocja mogą kumulować metale ciężkie, na co należy zwrócić uwagę podczas pozyskiwania ich do celów konsumpcyjnych (Shashkina i in. 2006).

Pozyskiwanie substancji aktywnych z chagi jest trudne i wymaga różnych metod ekstrakcji, m.in. ze względu na ich różną rozpuszczalność. Ponadto, substancje czynne mogą oddziaływać ze sobą nawzajem znosząc lub wzmacniając swoje działanie. Istotną kwestią jest zatem dobór metody ekstrakcji. Możliwe jest wyekstrahowanie konkretnych frakcji (np. frakcji polifenolowej). Badania frakcji polisacharydowej są obecnie najprężniej prowadzone ze względu na bardzo szeroki zakres działania biologicznego polisacharydów z *Inonotus obliquus* (IOPS).



**Rysunek 1.** Sklerocja błyskoporka podkorowego (<https://naturamushrooms.com/blogs/news/chagi-mushroom-antioxidants>)

Związki aktywne produkowane przez *Inonotus obliquus* np. polisacharydy (IOPS), mają działanie przeciwnowotworowe, przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwwirusowe, immunomodulacyjne, hipoglikemiczne i hipolipidemiczne (Tanye 2021, Yu i in. 2021, Zhao i Zheng 2021). Wśród związków aktywnych w dużych ilościach występują polifenole o właściwościach przeciwutleniających (Wang i in. 2020). Inne substancje obecne w chagi to triterpenoidy o działaniu przeciwnowotworowym, przeciwzapalnym, przeciwwirusowym, przeciwutleniającym i hepatoprotekcyjnym (Du i in. 2021, Maza i in. 2021, Zou i in. 2020), melanina o aktywności przeciwutleniającej, przeciwzapalnej, przeciwwirusowej, hipolipidemicznej i immunomodulującej (Lu i in. 2021, Nosik i in. 2020, Wold i in. 2020) oraz ergosterol i jego nadtlenek, seskwiterpeny, pochodne kwasu benzoowego, analogi hispidyn (Szychowski 2020).

Badania nad aktywnością przeciwwirusową i przeciwbakteryjną ekstraktów z *Inonotus obliquus* są nieliczne. Potwierdzono jednak ich wysoki potencjał przeciwwirusowy. Wodny ekstrakt z błyskoporka podkorowego hamował proteazę wirusa HIV typu 1, co utrudniało wejście wirionów do komórek (Ichimura i in. 1998). W badaniach nad HCV (*Hepatitis C Virus*) u świń stwierdzono, że wodny ekstrakt z *Inonotus obliquus* działał hamująco na wirusa, w najwyższych stężeniach znacznie lub całkowicie zatrzymywana była jego reprodukcja. Ponadto ekstrakt chronił zdrowe komórki przed infekcją, jeśli został zaaplikowany 24 h przed ekspozycją (Shibnev i in. 2011). Badania na linii komórek "Vero" (linia komórek pochodzących z tkanki nabłonkowej nerki koczkodana zielonosiwego) zakażonych wirusem opryszczki typu 1 pokazały, że dodatek wodnego ekstraktu z *Inonotus obliquus* przeciwdziałał temu wirusowi (Kapp i in. 2017). Przeprowadzono również badania, które wykazały aktywność *Inonotus obliquus* przeciwko wirusom kocim (Szychowski i in. 2021).

Badań nad działaniem przeciwbakteryjnym ekstraktów z *Inonotus obliquus* przeprowadzono jeszcze mniej niż tych dotyczących wirusów. Hu i in. (2017) wykazali, że IOPS mogą pełnić funkcję regulacyjną flory jelitowej u myszy z zapaleniem trzustki. Z kolei Glamočlija i in. (2015) badali wpływ chagi na mikroorganizmy patogenne. Z badań wynikało, że substancje aktywne grzyba najsilniej przeciwdziałają bakteriom *Staphylococcus aureus* oraz *Bacillus cereus*, ale również *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* i *Enterobacter cloacae* są podatne na jego działanie. Jeśli chodzi o grzyby, zanotowano silny efekt hamujący w odniesieniu do *Trichoderma viride* oraz słabszy przeciw *Aspergillus niger* i *Aspergillus fumigatus*.

Bakterie kwasu mlekowego (LAB – Lactic Acid Bacteria) należą do bakterii Gram-dodatnich, fermentujących, fakultatywnie beztlenowych i nietworzących przetrwalników, mają kształt ziarniaków albo krótkich laseczek. W obecnie obowiązującej taksonomii bakterie te klasyfikuje się jako typ Firmicutes, klasa Bacilli, rząd Lactobacillales, rodzina Lactobacillaceae, zawierająca m. in. rodzaje *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Levilactobacillus*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* i *Weissella*. Do tych bakterii zaliczamy też *Bifidobacterium*, które nie są spokrewnione filogenetycznie z bakteriami mlekowymi, ale wykazują podobieństwo biochemiczne, fizjologiczne i występowanie (Khalid 2011). Cechą charakterystyczną LAB jest produkcja kwasu mlekowego na drodze fermentacji cukrów oraz wyspecjalizowany metabolizm (homofermentacja i heterofermentacja). Bakterie homofermentatywne produkują głównie kwas mlekowy w szlaku Emden-Meyerhoffa (EMP). Bakterie heterofermentatywne rozkładają glukozę z wykorzystaniem szlaku pentozo-fosforanowego, w wyniku czego powstają, poza kwasem mlekowym, kwasy octowy i mrówkowy, dwutlenek węgla i etanol (Jurkowski i Błaszczuk 2012). Bakterie LAB naturalnie wznoszą się w mleku, zdrowych i gnijących roślinach oraz w układach pokarmowych oraz błonach śluzowych zwierząt, w tym ludzi (Zheng i in. 2020). Bakterie produkują związki o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Do niskocząsteczkowych metabolitów LAB zaliczamy m. in.: kwas mlekowy, kwas octowy, nadtlenuk wodoru, reuterinę i inne. Metabolity wysokocząsteczkowe to bakteriocyny (Susković i in.

2010). Wśród LAB opisuje się dużą grupę szczepów probiotycznych, które podane w odpowiedniej ilości pozytywnie wpływają na zdrowie człowieka (Hill i in. 2014). Wykorzystane do badań szczepy bakterii mlekowych mają szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym lub są probiotykami.

Konsumenci stosują zwykle suplementy z konkretnych powodów zdrowotnych lub w celu uzupełnienia niedoborów danego składnika. Ciekawym i słabo przebadanym zagadnieniem jest wpływ związków aktywnych i suplementów grzybowych na bakterie mlekowe, bakterie występujące w naszym mikrobiomie i patogeny. Ze względu na udowodnione działanie przeciwdrobnoustrojowe, zarówno grzybowych czy roślinnych suplementów diety oraz probiotyków i bakterii mlekowych, ciekawym rozwiązaniem mogłoby być wspólne stosowanie probiotyków i suplementów diety. Teoretycznie wydaje się, że efekt wspólnego stosowania mógłby być synergistyczny. Dlatego celem pracy było zbadanie wpływu preparatu i ekstraktów z błyskoporka podkorowego na wzrost wybranych bakterii mlekowych i patogenów w warunkach *in vitro*.

## 2. Materiał i metody

### 2.1. Materiały

Materiałami wykorzystanymi do badań były: suplement diety – kapsułki Chagi ForMeds Bicaps (Biostima; sproszkowany ekstrakt z grzyba *Inonotus obliquus* standaryzowany na 320 mg beta-glukanu) oraz 2 próbki sklerocjów grzyba *Inonotus obliquus* pobrane za zgodą właściciela terenu z Storö, Szwecja 2021 r. (chagi 1) i z Noren, Szwecja 2022 r. (chagi 2). Próbkę sklerocjów wysuszono, sproszkowano i przechowywano w szczelnie zamkniętym słoiku w temperaturze pokojowej.

Do badań wykorzystano bakterie kwasu mlekowego: *Lactiplantibacillus plantarum* (ATCC 8014), *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Lacticaseibacillus casei* (ATCC 393), *Levilactobacillus brevis* (ACTT 14869), *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ATCC 7469) oraz bakterie: *Escherichia coli* (DSM 1116), *Enterococcus faecalis* (IAW 168), *Staphylococcus aureus* (DSM 18586). Bakterie zakupiono z kolekcji czystych kultur DSMZ Berlin. Do hodowli bakterii mlekowych wykorzystano MRS BROTH lub MRS LAB-AGAR (Biomaxima), a do hodowli pozostałych bakterii agar PCA (Plate Count Agar, Biomaxima).

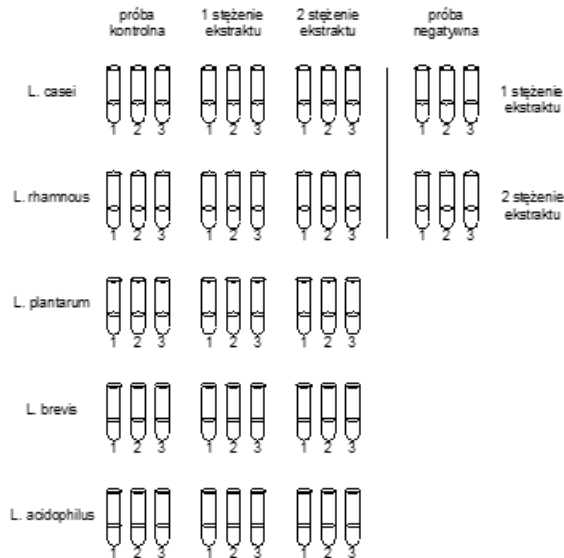
### 2.2. Ekstrakcja

Przeprowadzono wodną ekstrakcję związków aktywnych ze sklerocjów chagi 1 i 2. Zmielone próbki sklerocjów zawieszono w wodnym roztworze MRS w proporcji 1:43 oraz 1:28,67 (*Inonotus obliquus*: roztwór MRS). Ekstrakcję prowadzono w łaźni wodnej, w stałej temp. 85 °C, przez 4,77 h. Uzyskano w ten sposób ekstrakty o stężeniach 2,36% oraz 3,49% *Inonotus obliquus*, odpowiednio chagi 1 i chagi 2. Ekstrakty przed dodaniem do pożywki MRS sterylizowano przez filtry strzykawkowe (średnica porów 0,2 µm). Zawartość kapsułek suplementu chagi zawieszono w pożywce MRS, całość sterylizowano przez filtry membranowe (średnica porów 0,2 µm). Kapsułka zawierała sproszkowany ekstrakt z błyskoporka standaryzowany na β-glukany.



### 2.3. Badanie wpływu ekstraktów z *Inonotus obliquus* na wzrost bakterii mlekowych

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach jałowych. Przygotowano po dwa stężenia chagi 1, 2 i suplementu diety. Schemat doświadczenia dla chagi 1 przedstawiono na rysunku 2. Wszystkie warianty doświadczenia wykonano w 3 powtórzeniach. Kontrolę pozytywną stanowiły hodowle badanych LAB w płynnym MRS. Próby badawcze zawierały dwa stężenia chagi 1 oraz badaną bakterię mlekową. Próby negatywne zawierały tylko dwa stężenia chagi 1. Końcowa objętość każdej próby wynosiła 10 ml. Końcowe stężenia dla chagi 1 i 2 wynosiły 0,24% (stężenie 1) oraz 0,35% (stężenie 2). W taki sam sposób przeprowadzono badanie dla chagi 2 i suplementu ForMeds. Hodowle prowadzono w termostacie w 37 °C przez 48 h.



**Rysunek 2.** Schemat doświadczenia badającego wpływ ekstraktów z *Inonotus obliquus* na wzrost bakterii mlekowych

### 2.4. Oznaczenie liczebności bakterii

Pomiaru liczebności bakterii, metodą gęstości optycznej (OD), dokonano za pomocą densytometru DEN-1B (Biosan), a następnie przeliczono na liczbę bakterii w 1 ml. Pomiar gęstości prowadzono w dniu 0 (założenie hodowli), po 24 i 48 h inkubacji. Przed pomiarem, każdą próbkę mieszano przy użyciu vortexu (RS-VA 10, Phoenix Instrument). Liczbę bakterii przeliczono wg wytycznych producenta densytometru w skali McFarlanda. Kontrola negatywna miała wskazać czy owocniki chagi i suplement diety w różnych stężeniach nie wpływają na gęstość optyczną roztworu. W takim przypadku od gęstości optycznej próby należało odjąć gęstość optyczną kontroli negatywnej.

## 2.5. Badanie wpływu ekstraktów z *Inonotus obliquus* na wzrost bakterii metodą studzienkowo-dyfuzyjną

W celu zbadania wpływu ekstraktów uzyskanych ze sklerocjów oraz suplementu diety na wzrost bakterii wskaźnikowych *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* wykonano posiewy metodą studzienkowo-dyfuzyjną. Wszystkie posiewy wykonano w warunkach sterylnych. Hodowlę każdej bakterii wskaźnikowej (24 h) w płynnym bulionie odżywczym wysiano do pustych sterylnych szalek Petriego w objętości 0,1 ml. Następnie zalano (posiew wgłębnym) wystudzonym do ok. 55 °C podłożem PCA, wymieszano i pozostawiono do zestalenia. Za pomocą korkoboru o średnicy 0,83 cm, wycięto studzienki (po trzy w każdej szalce). Do otrzymanych studzienek dodano po 0,1 ml odpowiednich stężeń chagi 1 i 2 oraz suplementu diety w 3 powtórzeniach. Miejsca ich podania zostały wcześniej opisane na rewersie szalek wg schematu: A – chagi 1 stężenie 1, B – chagi 1 stężenie 2, C – chagi 2 stężenie 1, D – chagi 2 stężenie 2, E – suplement diety stężenie 1, F – suplement diety stężenie 2. Posiewy kontrolne wykonano dla bakterii wskaźnikowych podając do studzienek penicylinę i amoksycylinę. Wszystkie hodowle inkubowano w termostacie w 32 lub 37 °C przez 24 godziny. Po tym czasie analizowano posiewy i mierzono średnice stref zahamowania wzrostu (w mm).

## 2.6. Analiza statystyczna

Wszystkie próby w doświadczeniach przeprowadzono w 3 powtórzeniach. Wykonano obliczenia średnich i odchylenia standardowe. W celu określenia różnic statystycznie istotnych pomiędzy średnimi wykonano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA z testem post-hoc Tukey-Kramera przy  $p < 0,05$  (InStat3).

## 3. Wyniki i dyskusja

### 3.1. Wpływ ekstraktów z błyskoporka podkorowego na wzrost bakterii kwasu mlekowego

Ekstrakcję związków aktywnych z błyskoporków podkorowych, wykorzystanych do tej pracy, wykonano w roztworze wodnym. Daje to pewność, że rozpuszczalnik nie wpłynie na wzrost bakterii mlekowych. Do ekstrakcji zastosowano metodę opisaną przez Xintong i in. (2017). W metodzie tej ekstrakcję prowadzono wodą o temperaturze 85 °C przez 4,77 h, w stosunku 1:43 (grzyby:wody). W ten sposób można otrzymać wyższą wydajność polisacharydów (16,86). Z *Inonotus obliquus* można uzyskać różne ekstrakty, np.: wodny, etanolowy, metanolowy, wodno-metanolowy, z wykorzystaniem wodorotlenku sodu, cykloheksanu, octanu etylu oraz uzyskać różne frakcje np.: melaniny, inodotiolową, flawonową, triterpenoidową i steroidową, polisacharydową oraz polifenolową (Szychowski i in. 2020). Polifenole można skutecznie ekstrahować w wyciągu wodnym, kwasy fenolowe w metanolowym, a najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne uzyskać w wyciągu wodno-metanolowym (Szymański i Staniszevska 2022). Pozyskiwanie polisacharydów w wyciągu wodnym polega na inkubacji surowca w wodzie w 80 °C przez 1,5 h, w stosunku 1:40 materiału do cieczy, a wydajność tego procesu w odniesieniu do polisacharydów wynosi

2,53% (Gao i in. 2012, Lu i in. 2021). Wyższą wydajność polisacharydów (16,86) w wyciągu wodnym można uzyskać stosując temperaturę 85 °C przez 4,77 h, w stosunku 1:43 (Xin-tong in. 2017). W celu uzyskania większej wydajności ekstrakcji w możliwie krótkim czasie, można wykorzystać wspomaganie mikrofalowe, ultradźwiękowe ogrzewanie, technologię powietrzną, proces ekstrakcji wspomagany celulazą, wysokonapięciowe impulsowe pola elektryczne oraz metody ekstrakcji błyskowej (Lu i in. 2021, Jingbo 2017, Shichun i in. 2014, Wang i in. 2020). Najbezpieczniejszą metodą ekstrakcji do celów mikrobiologicznych jest ekstrakcja z użyciem gorącej wody. Eliminuje ona ewentualne ryzyko wpływu alkoholu z próbki na wzrost badanych mikroorganizmów.

W tabeli 1 przedstawiono zmiany liczebności badanych bakterii mlekowych hodowanych w pożywce MRS z dodatkiem chagi 1 w stężeniu 0,24 lub 0,35%. W przypadku wszystkich bakterii, w hodowlach kontrolnych obserwowano istotny wzrost po 24 i/lub 48 h inkubacji. Błyskoporek podkorowy w obu stężeniach, stymulował wzrost *Lactobacillus acidophilus* LA-5, ale tylko w pierwszej dobie był to wzrost istotny statystycznie. Po 48 godzinach nie odnotowano istotnego wzrostu tych bakterii, a w przypadku stężenia 0,35% w drugiej dobie odnotowano nieco mniejszą liczebność bakterii, porównaniu do kontroli po 48 h. *Inonotus obliquus* (chagi 1) w pierwszej dobie hodowli, w stężeniu 0,24%, w niewielkim stopniu stymulował wzrost *Levilactobacillus brevis*, natomiast w stężeniu 0,35% wzrost bakterii był istotny, ale liczebność niewielka. Dopiero po 48 h grzyb ten, zastosowany w obu stężeniach, istotnie pobudził bakterie do wzrostu, w porównaniu do hodowli kontrolnej po 48 h. Wzrost bakterii *Lactocaseibacillus rhamnosus* był istotnie stymulowany przez chagę 1 w obu stężeniach (0,24% i 0,35%), zarówno po 24, jak i 48 h hodowli, w porównaniu do hodowli kontrolnych z tych dni. W przypadku bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* można stwierdzić, że nie zaobserwowano wpływu błyskoporka podkorowego 1 na liczebność bakterii.

Błyskoporek podkorowy 1 stymulował wzrost *Lactocaseibacillus casei*, a liczebność bakterii zwiększyła się istotnie w hodowlach zawierających stężenie chagi 0,24% i 0,35% zarówno w pierwszej i drugiej dobie inkubacji.

**Tabela 1.** Liczebności komórek bakterii mlekowych ( $\times 10^6 \text{ cm}^3$ ) hodowanych w obecności ekstraktów chagi 1

	Czas inkubacji	<i>L. acidophilus</i> LA-5	<i>L. brevis</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. casei</i>
<b>Kontrola</b>	0h	100 <sup>a</sup> ± 9	221 <sup>a</sup> ± 2	121 <sup>a</sup> ± 21	106 <sup>a</sup> ± 7	105 <sup>a</sup> ± 6
	24 h	1119 <sup>b</sup> ± 121	302 <sup>a</sup> ± 34	1093 <sup>b</sup> ± 124	1254 <sup>b</sup> ± 11	1163 <sup>b</sup> ± 61
	48 h	1245 <sup>b</sup> ± 67	1655 <sup>c</sup> ± 62	1122 <sup>b</sup> ± 99	1253 <sup>b</sup> ± 7	1108 <sup>b</sup> ± 42
<b>0,24% chagi 1</b>	0 h	120 <sup>a</sup> ± 23	215 <sup>a</sup> ± 40	163 <sup>a</sup> ± 31	127 <sup>a</sup> ± 18	122 <sup>a</sup> ± 7
	24 h	1361 <sup>c</sup> ± 71	446 <sup>a</sup> ± 33	1373 <sup>c</sup> ± 118	1234 <sup>b</sup> ± 80	1387 <sup>c</sup> ± 40
	48 h	1290 <sup>b</sup> ± 42	2015 <sup>d</sup> ± 144	1331 <sup>c</sup> ± 111	1302 <sup>b</sup> ± 142	1372 <sup>c</sup> ± 71
<b>0,35% chagi 1</b>	0 h	139 <sup>a</sup> ± 3	262 <sup>a</sup> ± 30	144 <sup>a</sup> ± 40	129 <sup>a</sup> ± 7	126 <sup>a</sup> ± 26
	24 h	1271 <sup>c</sup> ± 98	549 <sup>b</sup> ± 46	1316 <sup>c</sup> ± 142	1362 <sup>b</sup> ± 65	1433 <sup>c</sup> ± 78
	48 h	1177 <sup>b</sup> ± 65	2015 <sup>d</sup> ± 144	1419 <sup>c</sup> ± 86	1368 <sup>b</sup> ± 42	1294 <sup>c</sup> ± 113

Objaśnienia: Różne litery w obrębie kolumny oznaczają istotne zróżnicowanie pomiędzy średnimi przy  $p < 0,05$ .

Bakterie mlekowe wymagają do swojego wzrostu, szczególnie w warunkach laboratoryjnych, odpowiednich składników odżywczych, pH, temperatury oraz warunków względnie beztlenowych. W tabeli 2 przedstawiono zmiany liczebności bakterii kwasu mlekowego, które hodowano w pożywce MRS zawierającej ekstrakt z błyskoporka podkorowego (chagi) 2 w stężeniu 0,24% lub 0,35% oraz w próbie kontrolnej. Wzrost bakterii w hodowłach kontrolnych był z reguły nieistotny statystycznie. Należy podkreślić, że owocnik chagi 2 miał wyraźnie jaśniejszą barwę niż owocnik chagi 1, co może być związane z niższą zawartością melaniny, która wytwarzana jest pod wpływem promieni słonecznych. Stanowisko wzrostu chagi 2 charakteryzowało się większym zacienieniem niż chagi 1. Błyskoporek podkorowy (chagi) 2 istotnie stymulował do wzrostu wszystkie badane bakterie mlekowe. *Lactobacillus acidophilus* LA-5 namnażał się w sposób statystycznie istotny w obu hodowłach zawierających chagę 2 po 24 h i jeszcze bardziej po 48 h inkubacji, w porównaniu do hodowli kontrolnych z tych dni. Podobnie, w przypadku bakterii *Levilactobacillus brevis* obserwowano wzrost bakterii w pierwszej i drugiej dobie doświadczenia. W odniesieniu do bakterii *Lactocaseibacillus rhamnosus* owocnik chagi 2 także stymulował je do wzrostu w obu dniach inkubacji, przy czym większy wzrost stwierdzono 2 przypadku stężenia 0,35%.

Wcześniej zauważono, że w przypadku hodowli kontrolnych *Lactiplantibacillus plantarum* ich liczebność wzrosła bardzo nieznacznie i nieistotnie, natomiast chagi 2, w obu użytych stężeniach, zwiększyła liczebność tych bakterii w sposób statystycznie istotny, po 24 i 48 h inkubacji.

**Tabela 2.** Liczebności komórek bakterii mlekowych ( $\times 10^6 \text{ cm}^3$ ) hodowanych w obecności ekstraktów chagi 2

	<b>Czas inkubacji</b>	<b>L. acidophilus LA-5</b>	<b>L. brevis</b>	<b>L. rhamnosus</b>	<b>L. plantarum</b>	<b>L. casei</b>
<b>Kontrola</b>	0h	139 <sup>a</sup> ± 3	212 <sup>a</sup> ± 7	78 <sup>a</sup> ± 2	103 <sup>a</sup> ± 10	116 <sup>a</sup> ± 9
	24 h	523 <sup>b</sup> ± 55	1330 <sup>b</sup> ± 17	81 <sup>a</sup> ± 2	111 <sup>a</sup> ± 9	1063 <sup>b</sup> ± 35
	48 h	1090 <sup>c</sup> ± 6	1270 <sup>b</sup> ± 15	196 <sup>b</sup> ± 105	103 <sup>a</sup> ± 2	1093 <sup>b</sup> ± 53
<b>0,24% chagi 2</b>	0 h	185 <sup>a</sup> ± 11	278 <sup>a</sup> ± 5	88 <sup>a</sup> ± 3	108 <sup>a</sup> ± 5	181 <sup>a</sup> ± 22
	24 h	969 <sup>c</sup> ± 33	1492 <sup>c</sup> ± 68	229 <sup>b</sup> ± 6	279 <sup>a</sup> ± 20	1362 <sup>c</sup> ± 89
	48 h	1358 <sup>d</sup> ± 23	1454 <sup>c</sup> ± 20	237 <sup>b</sup> ± 5	282 <sup>a</sup> ± 18	1400 <sup>c</sup> ± 64
<b>0,35% chagi 2</b>	0 h	155 <sup>a</sup> ± 5	269 <sup>a</sup> ± 49	95 <sup>a</sup> ± 1	114 <sup>a</sup> ± 14	149 <sup>a</sup> ± 10
	24 h	1136 <sup>c</sup> ± 22	1475 <sup>c</sup> ± 61	304 <sup>c</sup> ± 8	323 <sup>c</sup> ± 5	1426 <sup>c</sup> ± 4
	48 h	1439 <sup>c</sup> ± 66	1595 <sup>c</sup> ± 48	334 <sup>c</sup> ± 40	321 <sup>c</sup> ± 13	1525 <sup>d</sup> ± 35

Objaśnienia: jak pod tabelą 1

Stymulujący wpływ ekstraktów z błyskoporka podkorowego obserwowano również w przypadku bakterii *Lactocaseibacillus casei*. Obserwowano statystycznie istotny wzrost liczby bakterii w hodowli z ekstraktem z chagi 2 o stężeniu 0,24 i 0,35% w pierwszej i drugiej dobie doświadczenia.

W tabeli 3 przedstawiono zmiany liczebności bakterii mlekowych hodowanych na podłożu MRS zawierającym ekstrakt suplementu chagi ForMeds w stężeniu 0,24% lub 0,35%. Badane bakterie w hodowlach kontrolnych charakteryzowały się z reguły intensywniejszym wzrostem, w porównaniu do prób kontrolnych z pierwszego dnia doświadczenia. Wyjątek stanowiły bakterie *L. brevis*, które namnażały się bardzo wolno w próbach kontrolnych po 24 i 48 h inkubacji.

Suplement chagi w obu stężeniach stymulował istotny wzrost *Lactobacillus acidophilus* po 24 i 48 h inkubacji. Podobne działanie suplementu chagi obserwowano dla *L. rhamnosus*. W obu przypadkach liczebność bakterii nie była bardzo wysoka w porównaniu do hodowli kontrolnych z danych dni, niemniej jest to efekt istotny statystycznie. Suplement chagi, niezależnie od stężenia, stymulował wzrost bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* po 24 h i 48 h hodowli, przy czym intensywniejszy wzrost nastąpił po 48 h inkubacji, w porównaniu do hodowli kontrolnych. Podobny wpływ suplementu chagi obserwowano w przypadku bakterii *Lactocaseibacillus casei*.

Wspomniano powyżej, że bakterie *Levilactobacillus brevis* w hodowlach kontrolnych rosły bardzo powoli. Z kolei suplement diety w stężeniu 0,24% stymulował istotny wzrost tych bakterii po obu dniach hodowli. Wyższe stężenie suplementu chagi miało większy wpływ na zwiększenie liczby bakterii *L. brevis* po 24 i 48 h, w porównaniu do hodowli kontrolnych.

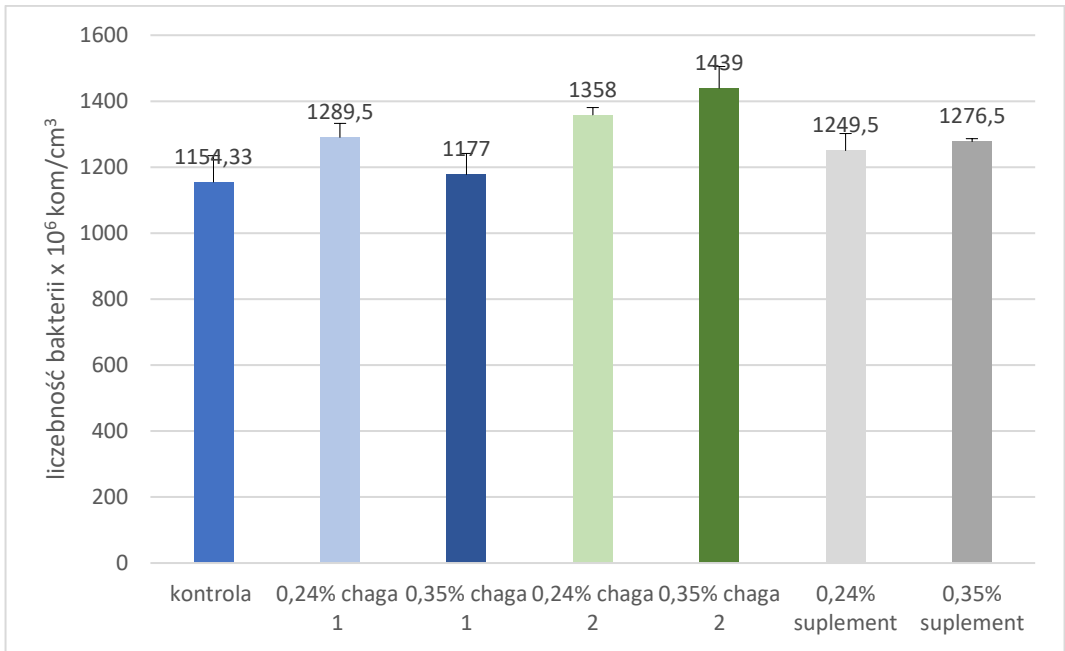
**Tabela 3.** Liczebności komórek bakterii mlekowych ( $\times 10^6$  cm<sup>3</sup>) hodowanych w obecności suplementu chagi

	<b>Czas inkubacji</b>	<b><i>L. acidophilus</i> LA-5</b>	<b><i>L. brevis</i></b>	<b><i>L. rhamnosus</i></b>	<b><i>L. plantarum</i></b>	<b><i>L. casei</i></b>
<b>Kontrola</b>	0h	111 <sup>a</sup> ±25	388 <sup>a</sup> ±8	105 <sup>a</sup> ±6	101 <sup>a</sup> ±2	99 <sup>a</sup> ±2
	24 h	1076 <sup>b</sup> ±25	418 <sup>a</sup> ±17	1088 <sup>b</sup> ±73	996 <sup>b</sup> ±13	837 <sup>b</sup> ±15
	48 h	1129 <sup>b</sup> ±34	417 <sup>a</sup> ±9	1134 <sup>b</sup> ±37	1140 <sup>b</sup> ±14	1086 <sup>c</sup> ±62
<b>0,24% suplementu chagi</b>	0 h	153 <sup>a</sup> ±3	345 <sup>a</sup> ±36	150 <sup>a</sup> ±6	140 <sup>a</sup> ±3	123 <sup>a</sup> ±10
	24 h	1233 <sup>c</sup> ±51	579 <sup>b</sup> ±25	1308 <sup>c</sup> ±56	1101 <sup>b</sup> ±53	1064 <sup>c</sup> ±54
	48 h	1250 <sup>c</sup> ±53	585 <sup>b</sup> ±25	1327 <sup>c</sup> ±56	1249 <sup>c</sup> ±23	1282 <sup>d</sup> ±44
<b>0,35% suplementu chagi</b>	0 h	118 <sup>a</sup> ±10	366 <sup>a</sup> ±10	142 <sup>a</sup> ±48	165 <sup>a</sup> ±34	130 <sup>a</sup> ±31
	24 h	1243 <sup>c</sup> ±74	722 <sup>c</sup> ±35	1272 <sup>c</sup> ±56	1132 <sup>b</sup> ±139	1180 <sup>c</sup> ±63
	48 h	1277 <sup>c</sup> ±10	702 <sup>c</sup> ±3	1309 <sup>c</sup> ±27	1276 <sup>c</sup> ±37	1278 <sup>d</sup> ±42

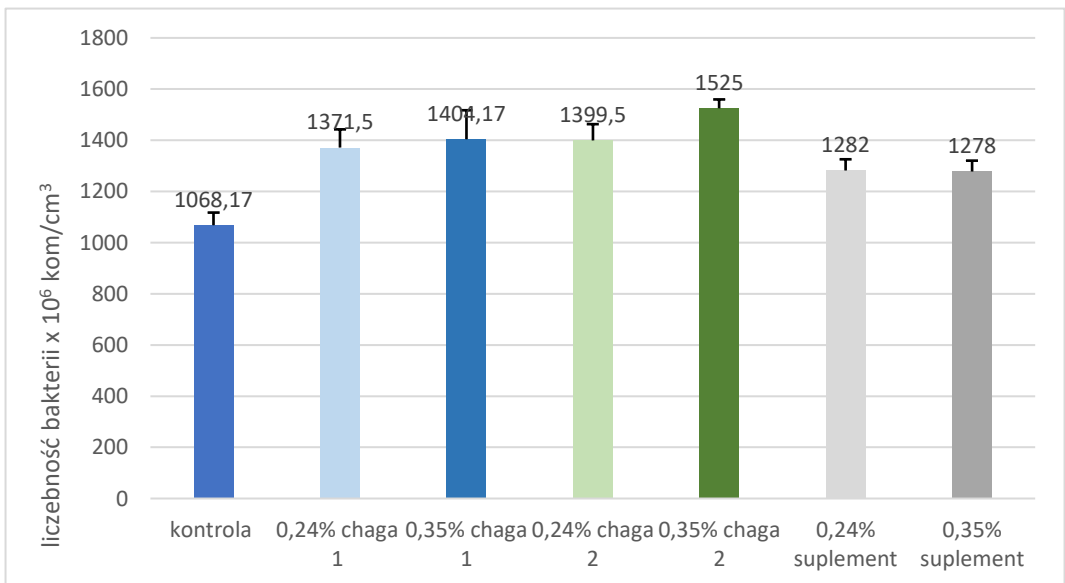
Objaśnienia: jak pod tabelą 1

Na rysunku 3 przedstawiono przykładowe zestawienie liczebności bakterii *L. acidophilus* LA-5 hodowanych w pożywkach z ekstraktami z błyskoporka podkorowego 1 i 2 oraz suplementem chagi ForMeds (w stężeniach 0,24 i 0,35%) po 48 h inkubacji. Założeniem takiego zestawienia było wykazanie, który z ekstraktów chagi wykazuje największy wpływ stymulujący na badane bakterie. Niestety z uwagi na różnice w liczebności bakterii w różnych próbach nie możliwe było wykonanie analizy statystycznej. W związku z tym należy wykonać ponowne badania, w których hodowlę danego szczepu LAB przeprowadzi się w pożywkach z dodatkiem ekstraktów chagi 1, 2 i suplementu w danych stężeniach. Poniższe zestawienie można więc potraktować jedynie szacunkowo. Błyskoporek podkorowy 2 w obu stężeniach najbardziej stymulował do wzrostu bakterie *L. acidophilus*. Z kolei chagi 1 i suplement chagi w niewielkim stopniu stymulowały wzrost tych bakterii, albo w ogóle nie wywoływały takiego efektu.

Na rysunku 4 przedstawiono liczebność bakterii *L. casei* hodowanych w pożywkach z ekstraktami z błyskoporka podkorowego 1 i 2 oraz suplementu chagi ForMeds (w stężeniach 0,24 i 0,35%) po 48 h inkubacji. Największy stymulujący wpływ na wzrost bakterii *L. casei* wykazywał ekstrakt z chagi 2, szczególnie w stężeniu 0,35%. Nieco mniejszy wpływ obserwowano w hodowli z ekstraktem z chagi 1, przy czym wyższe jej stężenie spowodowało wzrost liczebności bakterii. Ekstrakt z suplementu chagi w niewielkim stopniu wpływał na wzrost *L. casei*.



**Rysunek 3.** Wpływ ekstraktów z błyskoporka podkorowego (chagi) 1 i 2 oraz suplementu diety na wzrost *Lactobacillus acidophilus* LA-5 po 48 h hodowli



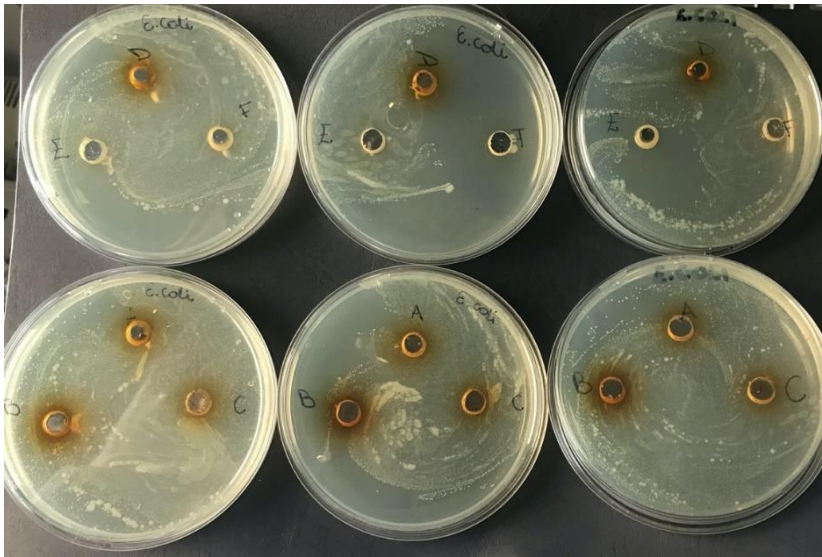
**Rysunek 4.** Wpływ ekstraktów z błyskoporka podkorowego (chagi) 1 i 2 oraz suplementu diety na wzrost *Lactocaseibacillus casei* po 48 h hodowli

Jak wspomniano powyżej, ze względu na duże różnice w liczebności bakterii, niemożliwe było pełnego porównania wpływu poszczególnych ekstraktów chagi na wzrost ich liczebności pozostałych bakterii LAB. W przypadku *L. brevis* obserwowano, że ekstrakt z

chagi 1 w większym stopniu niż z chagi 2 stymulował wzrost bakterii. *L. rhamnosus* był stymulowany do wzrostu bardziej przez ekstrakt błyskoporka podkorowego 1 niż jego suplement. Podobnie *L. plantarum* był stymulowany do wzrostu najbardziej przez chagę 1 niż jej suplement.

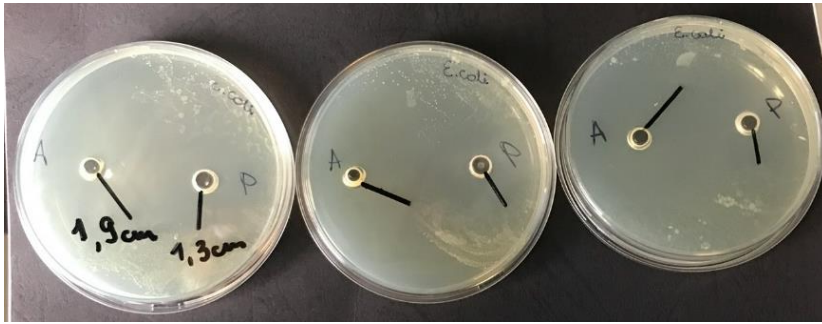
### 3.2. Wpływ ekstraktów z *Inonotus obliquus* na wzrost bakterii wskaźnikowych

Metoda studzienkowo-dyfuzyjna, za pomocą której badano wpływ różnych stężeń chagi 1, 2 oraz suplementu na bakterie *E. coli*, *E. faecalis* i *S. aureus*, okazała się mało skuteczną do wyznaczenia wpływu przeciwdrobnoustrojowego chagi. Przykładowe wyniki doświadczenia dla *E. coli* przedstawia rysunek 5. W większości wariantów nie obserwowano stref zahamowania wzrostu. Na drugiej szalce, w górnym rzędzie, wokół studzienki F (2-gie stężenie suplementu chagi) można zauważyć strefę zahamowania wzrostu. Jest to jednak wynik, którego nie obserwowano w pozostałych powtórzeniach. Z kolei rysunek 6 przedstawia wyniki kontrolne, czyli wpływ amoksycyliny (A) i penicyliny (P) na *E. coli*. Wokół studzienek z antybiotykami widoczne są strefy zahamowania wzrostu, a zatem bakterie są wrażliwe na związki przeciwdrobnoustrojowe.



**Rysunek 5.** Wpływ ekstraktów z chagi 1 i 2 oraz suplementu chagi na *Escherichia coli* – metoda studzienkowo-dyfuzyjna





**Rysunek 6.** Wpływ amoksycyliny i penicyliny na *Escherichia coli* – metoda studzienkowo-dyfuzyjna (próba kontrolna)

Powyższe wyniki wykazały różny, ale istotny wpływ poszczególnych ekstraktów z chagi 1 i 2 oraz suplementu chagi na wzrost badanych bakterii kwasu mlekowego. Chaga 1 nie stymulowała *Lactobacillus acidophilus* do wzrostu, natomiast zarówno chaga 2, jak i suplement chagi ForMeds w dwóch stężeniach, stymulowały te bakterie do wzrostu. Największy efekt pobudzający wzrost obserwowano dla ekstraktu z chagi 2. Wszystkie wykorzystane ekstrakty z błyskoporków i suplementu, stymulowały wzrost bakterii *Levilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* oraz *Lacticaseibacillus casei*. Ekstrakt z chagi 1 najbardziej pobudzał wzrost bakterii *L. brevis* i *L. rhamnosus*, a ekstrakt z chagi 2 wzrost *L. casei*. Bakterie *Lactiplantibacillus plantarum* nie były stymulowane do wzrostu przez ekstrakt z chagi 1, ale chagi 2 w wyższym stężeniu i ekstrakt z suplementu chagi stymulowały wzrost tych bakterii.

Niewiele jest danych literaturowych, w których znaleźć można badania o bezpośrednim wpływie błyskoporka podkorowego na wzrost bakterii kwasu mlekowego. Hu i in. (2017) wykazali, że IOPS wyekstrahowane z *Inonotus obliquus* mogą regulować mikroflorę jelitową u myszy z zapaleniem trzustki. W badaniach *in vivo* mogą istnieć mechanizmy, które spowodują taki efekt np. wpływ IOPS na produkcję i aktywację poszczególnych enzymów. Glamočlija i in. (2015) prowadzili badania nad wpływem błyskoporka podkorowego na bakterie patogenne, metodą mikrorozcieńczeń. Wyniki wykazały, że najsilniej ekstrakt z *Inonotus obliquus* działał przeciwko bakteriom *Staphylococcus aureus* oraz *Bacillus cereus*, nieco mniej w stosunku do *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* i *Enterobacter cloacae*. Z kolei Sawangwan i in. (2018) badali prebiotyczne działanie grzybów jadalnych *Auricularia auricula-judae*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.Fr.) Kummer oraz *Pleurotus pulmonarius* za pomocą pomiaru gęstości optycznej w próbkach. Stwierdzono, że *Lentinus edodes* oraz *Pleurotus pulmonarius* wpływały stymulująco na wzrost bakterii mlekowych. Nowak i in. (2018) wykazali, że polisacharydy ekstrahowane z 53 gatunków grzybów stymulowały wzrost pożytecznych mikroorganizmów, takich jak bakterie kwasu mlekowego. Stymulacja wzrostu szczepów była większa niż w przypadku popularnych na rynku

prebiotyków, takich jak inulina czy fruktooligosacharydy. Ponadto, badane polisacharydy były wysoce odporne na działanie sztucznego soku żołądkowego.

Grzybowska i Karkocha (1968) przeprowadziły badania aktywności antybiotycznej metodą studzienkowo-dyfuzyjną wybranych gatunków grzybów *Basidiomycetes* względem bakterii *Staphylococcus pyogenes var. aureus* i *Escherichia coli*. Trzydzieści dwa gatunki grzybów hamowały wzrost *S. aureus*, a cztery *E. coli*. *Marasmius scorodoni* Fr. wykazał najsilniejsze działanie hamujące wzrost *S. aureus*.

Metoda studzienkowo-dyfuzyjna, w przypadku badania wpływu przeciwdrobnoustrojowego ekstraktów wodnych z błyskoporka lub suplementu chagi, okazała się mało przydatna. Być może stężenie agaru w pożywce uniemożliwiło dyfuzję związków aktywnych z chagi albo stężenie związków aktywnych było niewłaściwe lub nie zostały one właściwie wyekstrahowane.

Błyskoporek podkorowy wykazuje szerokie działanie prozdrowotne na organizm człowieka. Na polskim rynku dostępne są różne suplementy diety oferowane np. przez Terranova, MycoMedica czy ForMeds z Biostimy. Z pewnością związki aktywne z błyskoporka podkorowego nie pozostają bez wpływu na mikrobiom naszego przewodu pokarmowego, ale to wymaga dalszych badań *in vitro* i *in vivo*. Być może doprowadzi to do uzyskania skutecznych związków przeciw patogenom, które zaczynają budzić niepokój ze względu na postępującą antybiotykooporność.

#### 4. Wnioski

1. Ekstrakt z *Inonotus obliquus* nie wykazał hamującego wpływu na wzrost bakterii *E. coli* (DSM 1116), *E. faecalis* (IAW 168), *S. aureus* (DSM 18586) w metodzie studzienkowo-dyfuzyjnej.
2. Ekstrakt z owocnika *Inonotus obliquus* pochodzącego ze Storö (chagi 1) wykazywał stymulujący wpływ na wzrost bakterii *Levilactobacillus brevis* (ACTT 14869), *Lactocaseibacillus rhamnosus* (ATCC 7469) oraz *Lactocaseibacillus casei* (ATCC 393).
3. Ekstrakt z owocnika *Inonotus obliquus* pochodzącego z Noren (chagi 2) wpływał stymulująco na wzrost wszystkich badanych bakterii, podobnie jak suplement z chagi ForMeds.
4. Największy potencjał stymulujący wzrost bakterii *Levilactobacillus brevis* (ACTT 14869) i *Lactocaseibacillus rhamnosus* (ATCC 7469) wykazał ekstrakt pochodzący ze Storö (chagi 1), natomiast ekstrakt pochodzący z Noren (chagi 2) najbardziej stymulował wzrost *Lactobacillus acidophilus* LA-5 i *Lactocaseibacillus casei* (ATCC 393).

Projekt został sfinansowany ze środków SUB Dydaktycznej/WTŻ/2022.

#### Literatura

1. Brydon-Williams R., Munck I.A., Asbjornsen H. (2021). Draft incidence and ecology of the chagi fungus (*Inonotus obliquus*) in Hardwood New England/Acadian Forests. Canadian Journal of Forest Research, 51(1) 122-131.

2. Du N., Wu K., Zhang J., Wang L., Pan X., Zhu Y., Wu X., Liu J., Chen Y., Ye Y., Wang Y., Wu W., Cheng W., Huang Y. (2021). Inonotsuoxide B regulates M1 to M2 macrophage polarization through sirtuin-1/endoplasmic reticulum stress axis. *International Immunopharmacology*, 96, 107603.
3. Gao W., De-Shui Y.U., Liu J.N., Dai X. D., Han Z.H. (2012). Extraction of Polysaccharide from *Inonotus obliquus* Fruit Bodies. *Biotechnology*, 22(2), 70-73.
4. Glamočlija J., Ćirić A., Nikolić M., Fernandes A., Barros L., Calhelha R., Ferreira I., Soković M., Griensven L. (2015). Chemical characterization and biological activity of Chagi (*Inonotus obliquus*), a medicinal "mushroom". *Journal of Ethnopharmacology*, 162, 323-332.
5. Grzybowska J., Karkocha I. (1968). Substancje antybakteryjne w niektórych gatunkach grzybów należących do *Basidiomycetes*. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 19(4), 395-398.
6. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B., Morelli L., Canani B.R., Flint H. J., Salminen S., Calder P. C., Sanders M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506-514.
7. Hu Y., Shi S.Y., Lu L., Teng C.Y., Yu S.M., Wang X., Yu M., Liang J.S., Qu J. J. (2017). Effects of selenizing modification on characteristics and antioxidant activities of *Inonotus obliquus* polysaccharide. *Macromolecular Research*, 25, 222-230.
8. Ichimura T., Watanabe O., Maruyama S. (1998). Inhibition of HIV-1 protease by water-soluble lignin – like substance from an edible mushroom, *Fuscoporia obliqua*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62, 575-577.
9. Jingbo W. (2017). Optimization of extraction process of *Inonotus obliquus* polysaccharides and evaluation of antioxidant activity. *Food and Nutrition in China*, 23, 46-49.
10. Jurkowski M., Błaszczuk M. (2012). Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii fermentacji mlekowej. *Kosmos, Problemy nauk biologicznych*, 3(296), 493-504.
11. Kapp K., Püssa T., Vuorela H., Välimaa H. (2017). Antiviral effect of *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Pilat extract against herpes simplex virus type 1 *in vitro*. *Planta Medica International Open*, 4(S 01), S1-S202.
12. Khalid K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 1(3), 1-13.
13. Lu Y., Jia Y., Xue Z., Li N., Liu J., Chen H. (2021). Recent developments in *inonotus obliquus* (chagi mushroom) polysaccharides: isolation, structural characteristics, biological activities and application polymers. *Polymers*, 13, 1441.
14. Maza P.A.M.A., Lee J.-H., Kim Y.-S., Sun G.-M., Sung Y.-J., Ponomarenko L.P., Stonik V. A., Ryu M., Kwak J.-Y. (2021). Inotodiol from *Inonotus obliquus* chagi mushroom induces atypical maturation in dendritic cells. *Frontiers in Immunology*, 12, 650841.

15. Nosik D.N., Nosik N.N., Teplyakova T.V., Lobach O.A., Kiseleva I.A., Kondrashina N.G., Bochkova M.S., Ananko G.G. (2020). Antiviral activity of extracts of basidiomycetes and humic compounds substances against Human Immunodeficiency Virus (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1) and Herpes Simplex Virus (Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1) *Vopr. Virusology*, 65, 276-283.
16. Nowak R., Nowacka-Jechalke N., Juda M., Malm A. (2018). The preliminary study of prebiotic potential of Polish wild mushroom polysaccharides: the stimulation effect on *Lactobacillus* strains growth. *European Journal of Nutrition*, 57, 1511-1521.
17. Piętka J., Grzywacz A. (2006). Attempts at active protection of *Inonotus obliquus* by inoculating birches with its mycelium. *Acta Mycologica*, 41(2), 305-312.
18. Sawangwan T., Wansanit W., Pattani L., Noysang C. (2018). Study of prebiotic properties from edible mushroom extraction. *Agriculture and Natural Resources*, 52, 519-524.
19. Shashkina M.Y., Shashkin P.N., Sergeev A.V. (2006). Chemical and medicobiological properties of chagi (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 40, 560-568.
20. Shibnev V. A., Mishin D. V., Garaev T. M., Finogenova N. P., Botikov A. G., Deryabin P. G. (2011). Antiviral activity of *inonotus Obliquus* fungus extract towards infection caused by hepatitis c virus in cell cultures. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 151, 549-551.
21. Shichun Z., Zhaocheng Y., Deyi Z., Kangjian Z., Jinming G. (2014). Optimization of extraction technology for polysaccharides in *Inonotus Obliquus*. *The Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 31, 167-172.
22. Suskowić J., Kos B., Beganović J., Lebos-Pavunc A., Habjanić K., Matosić S. (2010). Antimicrobial Activity – The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48 (3), 296-307.
23. Szczepkowski A., Piętka J., Grzywacz A. (2013a). Biologia i właściwości lecznicze błyskoporka podkorowego *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát. *Sylvan*, 157 (3), 223-233.
24. Szczepkowski A., Piętka J., Grzywacz A. (2013b), Występowanie i zasoby błyskoporka podkorowego *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát w środkowej i wschodniej Polsce oraz problemy jego ochrony. *Sylvan*, 157 (7), 483-494.
25. Szychowski K.A., Skóra B., Pomianek T., Gmiński J. (2020). *Inonotus obliquus* - from folk medicine to clinical use. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11, 293-302.
26. Szymański M., Staniszevska J. (2022). Badania jakościowe i ilościowe wyciągów z *Inonotus obliquus*. *Postępy Fitoterapii*, 1, 3-9.
27. Tanye X. (2021). Optimization of extraction of polysaccharides from *Inonotus obliquus* by response surface methodology and antioxidant activity. *Food Research and Development*, 42, 143-148.

28. Wang Y., Ouyang F., Teng C., Qu J. (2020). Optimization for the extraction of polyphenols from *Inonotus obliquus* and its antioxidation activity. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 51(9):852-859.
29. Wold C.W., Gerwick W.H., Wangenstein H., Inngjerdingen K.T. (2020). Bioactive triterpenoids and water-soluble melanin from *Inonotus obliquus* (Chagi) with immunomodulatory activity. *Journal of Functional Food*, 71.
30. Xintong J., Siyue Z., Jie Z. (2017). Research on the optimization of exaction parameter for polysaccharide of *Inonotus obliquus* and its antioxidant activity. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 34, 584-594.
31. Yu J., Xiang H.Y., Xie Q.H. (2021). The difference of regulatory effect of two *Inonotus obliquus* extracts on high-fat diet mice in relation to the fatty acid elongation function of gut microbiota. *Food Science & Nutrition*, 9, 449-458.
32. Zhao Y.X., Zheng W.F. (2021). Deciphering the antitumoral potential of the bioactive metabolites from medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113321.
33. Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz, C.M., Harris H.M., Mattarelli P., O'Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanabe K., Wuyts S., Felis G.E., Gänzle M.G., Lebeer S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858.
34. Zheng W., Miao K., Liu Y., Zhao Y., Zhang M., Pan S., Dai Y. (2010). Chemical diversity of biologically active metabolites in the sclerotia of *Inonotus obliquus* and submerged culture strategies for up-regulating their production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 1237-1254.
35. Zou C.-X., Dong S.-H., Hou Z.-L., Yao G.-D., Lin B., Huang X.-X., Song S.-J. (2020). Modified lanostane-type triterpenoids with neuroprotective effects from the fungus *Inonotus obliquus*. *Bioorganic Chemistry*, 105.

## **The effect of the extract of chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) on selected pathogenic microorganisms and lactic acid bacteria *in vitro***

### **Abstract**

The aim of the study was to investigate the effect of extracts from the chagi mushroom on the growth of selected pathogens (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*) and lactic acid bacteria (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Levilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*). Two different chagi fruiting bodies in two concentrations each and its supplement were used for the analyses. None of the tested extracts had an inhibitory effect on the growth of *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*. Regarding the growth of lactic acid bacteria, the fruiting

body extract of *Inonotus obliquus* from Storö in both concentrations showed a stimulating effect on the growth of *Levilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus casei*. The extract from the fruiting body of *Inonotus obliquus* from Noren and the chagi supplement ForMeds stimulated the growth of all tested lactic acid bacteria. The greatest potential for stimulating the growth of *Levilactobacillus brevis* (ACTT 14869) and *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ATCC 7469) bacteria was demonstrated by the extract from *Inonotus obliquus* (chagi 1), while chagi 2 most stimulated the growth of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Lacticaseibacillus casei* (ATCC 393).

## Zawartość polifenoli ogółem i potencjał antyoksydacyjny wybranych ziół leczniczych uprawianych w Polsce

Magdalena Głowa, Marta Liszka-Skoczylas\*

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego*

*\*Autor korespondencyjny: marta.liszka-skoczylas@urk.edu.pl*

### Streszczenie

Stres oksydacyjny i związane z nim uszkodzenia składników komórkowych mogą doprowadzić do pojawienia się stanów patologicznych w organizmie. Bardzo ważną rolę w walce ze stresem oksydacyjnym odgrywają antyoksydanty, które są dostarczane wraz z pożywieniem. W niniejszej pracy zbadano potencjał przeciwutleniający *in vitro* ekstraktu z pięciu popularnych w Polsce ziół (rumianku lekarskiego, mięty pieprzowej, pokrzywy zwyczajnej, melisy lekarskiej i szafwii lekarskiej), oceniając ich aktywność neutralizowania rodników: 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylu (DPPH) i 2,2-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) (ABTS). W ekstraktach ziołowych oznaczono również zawartość polifenoli ogółem (ZPO), profil polifenolowy oraz zdolność redukcji jonów żelaza(III) (FRAP). Wyniki wykazały, że ekstrakt z rumianku zawiera substancje o właściwościach przeciw-utleniających w najmniejszej ilości spośród badanych ziół (ZPO 1132 mg/100 g suszu). Ponadto charakteryzował się on również najniższymi wartościami aktywności antyoksydacyjnej DPPH, ABTS i FRAP (DPPH – 50,91  $\mu\text{M}$  Troloxu/g, ABTS – 647,95  $\mu\text{M}$  Troloxu/g, FRAP - 17,59  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ /g). Najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym cechował się ekstrakt z liści melisy (ZPO – 7709 mg/100 g, DPPH – 3393  $\mu\text{M}$  Troloxu/g, ABTS 5139  $\mu\text{M}$  Troloxu/g, FRAP 206  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ /g). W ekstraktach z badanych ziół wśród polifenoli najmniej oznaczono antocyjanów, a najwięcej fenoli. Wykazano również wysoką korelację między FRAP, DPPH i ABTS, a zawartością polifenoli ogółem dla wszystkich ziół. Liście badanych roślin (poza rumiankiem) charakteryzowały się wyższym potencjałem antyoksydacyjnym niż ich łodygi.

**Słowa kluczowe:** zioła, potencjał antyoksydacyjny, polifenole

### 1. Wprowadzenie

Właściwa równowaga między ochroną antyoksydacyjną a produkcją reaktywnych form tlenu (RFT) odgrywa kluczową rolę w komórkach wszystkich żywych organizmów. Do RFT zaliczyć można m.in. wolne rodniki tlenowe, które powstają w każdej żywej komórce na skutek działania czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie UV, jak również podczas reakcji obronnych organizmu. W organizmie RFT pełnią istotną rolę, bowiem regulują ekspresję genów, stężenie wapnia w komórkach oraz eliminują niepożądane drobnoustroje. Nadmiar wolnych rodników może jednak wywołać stres oksydacyjny, określane jako zaburzenie równowagi między nasileniem procesów oksydacyjnych, stymulujących powstawanie reaktywnych form tlenu a zdolnością antyoksydacyjną organizmu.

Zakłócenie tej równowagi jest niebezpieczne, może spowodować uszkodzenie komórek i niestabilność genomu, a nawet wywołać procesy rakotwórcze. Stres oksydacyjny to przyczyna wielu zaburzeń autoimmunologicznych, chorób sercowo-naczyniowych czy neurodegeneracyjnych. W zależności od rodzaju komórek, reaktywne formy tlenu mogą na nie wpływać na różne sposoby (Zhang i in. 2022).

Rośliny uważane są za dobre źródło naturalnych przeciwutleniaczy, które poprzez eliminację RFT mogą przyczynić się do ograniczenia stresu oksydacyjnego i działania przeciwstarzeniowego (Kasote i in. 2015). W celu uniknięcia niedoboru przeciwutleniaczy w organizmie i zapobieżeniu różnego rodzaju chorobom konieczne jest utrzymanie w codziennej diecie odpowiedniego poziomu spożycia m.in. owoców i warzyw (Sularz i in. 2021). Zioła i przyprawy także charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, przez co mogą odgrywać istotną rolę w obronie antyoksydacyjnej i sygnalizacji redoks.

Zioła definiuje się jako części roślin (głównie liście) stosowane w diecie ze względu na ich aromat, charakteryzujące się niską wartością odżywczą (Hacskaylo 1996, Smith i Winder 1996). Zioła są stosowane od kilkuset lat w celu nadania smaku, barwy i aromatu żywności i napojów oraz wydłużenia jej trwałości. Ostatnio zioła i przyprawy zostały sklasyfikowane jako źródło różnych fitozwiązków, które determinują ich działanie lecznicze (Ahn i in. 2020, Dragland i in. 2003). Badania wykazały, że wiele ziół, w tym szalwia, rozmaryn, oregano czy mięta, posiada silne działanie przeciwutleniające. Przeciwutleniacze zawarte w ziołach to duża grupa związków bioaktywnych, na którą składają się flawonoidy, związki fenolowe, związki zawierające siarkę, garbniki, alkaloidy, diterpeny fenolowe i witaminy (Baniwal i in. 2021, Choi i Cha 2014, Surh 2006). Oprócz właściwości przeciwutleniających, zioła są klasyfikowane jako surowce „w pełni naturalne” lub „pochodzące ze źródeł naturalnych”, co jest atrakcyjną cechą dla konsumentów. Ze względu na rosnące zainteresowanie zdrowym stylem życia, rośnie także popularność stosowania ziół w codziennej diecie. Surowce te są często składnikiem suplementów diety, są również wykorzystywane w postaci naparów i nalewek do picia. Najbardziej rozpoznawalnymi ziołami, które można spotkać w Polsce są mięta pieprzowa, koper włoski, mniszek lekarski, kozłek lekarski, szalwia lekarska, dziurawiec zwyczajny, bazylia pospolita, majeranek ogrodowy czy melisa lekarska. Jednak nie są to wszystkie rośliny zielarskie uprawiane w Polsce, a nasz kraj należy do jednych z największych producentów ziół na świecie (Newerli-Guz 2016).

Podjęte w ramach niniejszej pracy badania miały na celu określenie właściwości przeciwutleniających naparów z pięciu najbardziej powszechnych ziół w Polsce: rumianku lekarskiego, mięty pieprzowej, pokrzywy zwyczajnej, melisy lekarskiej i szalwii lekarskiej. Biorąc pod uwagę, że konsumenci bardzo często sięgają po tradycyjne napary z ziół, powstałe przez zalanie gorącą wodą suszu, właściwości antyoksydacyjne określono dla rozтворów wodnych, a nie alkoholowych. W naparach z suszonych ziół oznaczono zawartość polifenoli ogółem i określono profil polifenolowy. Porównano również aktywność przeciwutleniającą wymienionych wyżej naparów wobec rodników: DPPH oraz ABTS.



Wykorzystana została także metoda FRAP w celu określenia zdolności redukcji jonów Fe(III) w naparach ziołowych.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał badany

Materiał do badań stanowił susz z liści i łodyg następujących ziół: rumianku lekarskiego (*Chamomile recutita*), mięty pieprzowej (*Mentha piperita*), pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*), melisy lekarskiej (*Melissa officinalis*) i szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*). Pokrzywę, szalwię oraz rumianek zebrano w połowie maja, zaś pozostałe zioła końcem czerwca 2022 roku. Wszystkie zioła zostały zebrane w okresie przed kwitnieniem. Rośliny zebrano na terenie województwa małopolskiego, w miejscowości położonej w gminie Tarnów w Polsce (50o11'29N 20o43'59E). Zebrane części nadziemne roślin w całości (liście nie zostały oddzielone od łodyg) oczyszczono, umyto i wysuszone metodą naturalną poprzez umieszczenie w zacienionym i zadaszonym miejscu w temperaturze otoczenia. Po wysuszeniu liście oddzielono od łodyg. Analizy laboratoryjne przeprowadzono na naparach przygotowanych z wcześniej zmielonych i wysuszonych ziół. Napar z liści przygotowano ze wszystkich zebranych ziół, natomiast napar z łodyg przygotowano z rumianku, pokrzywy i mięty, bowiem w wyniku procesu suszenia pozostały znikome ilości suszu z łodyg melisy i szalwii. Wodne napary z ziół do analizy zawartości polifenoli ogółem, profilu polifenolowego oraz do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej wobec rodników ABTS i DPPH oraz metodą FRAP przygotowano przez odważenie porcji suchych ziół (1,00 g) i zalanie ich 125 ml wrzącej wody destylowanej, a następnie parzenie ich pod przykryciem przez 15 min. Po ochłodzeniu próbki przefiltrowano. Tak przygotowany wodny ekstrakt wykorzystano do analiz metodą spektrofotometryczną przy użyciu spektrofotometru UV-VIS (Shimadzu 160A, Kioto, Japonia).

### 2.2. Metody badawcze

#### 2.2.1 Zawartość polifenoli ogółem i profil polifenolowy

Zawartość polifenoli ogółem w sporządzonych naparach badano przy użyciu metody Folina-Ciocalteu według procedury opisanej przez Singeltona i in. (1999). Określoną porcję ekstraktu (0,5 ml) zmieszano z odczynnikiem Folina-Ciocalteu oraz 25% węglanem sodu (0,125 ml odczynnika Folina-Ciocalteu z 0,25 ml 25% wodnego roztworu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Po wymieszaniu i godzinnej inkubacji w temperaturze otoczenia, bez dostępu światła zmierzono absorbancję przy długości fali 760 nm. Całkowitą zawartość polifenoli odczytano z krzywej wzorcowej przygotowanej dla (+)-katechiny. Pomiaru dokonano trzykrotnie, a wynik wyrażony w mg (+)-katechiny/100 ml naparu oraz 100 g suszu.

Zawartość związków fenolowych, takich jak fenylopropanoidy, fenole, flawonoidy i antocyjany oznaczono zgodnie z metodą opisaną przez Fukumoto i Mazza (2000). Odpowiednią ilość naparów (0,25 ml) mieszano z 0,25 ml 0,1% HCl w 96% etanolu i 4,5 ml 2% HCl. Absorbancję przygotowanych roztworów odczytano przy 280 nm, 320 nm, 360 nm i 520

nm, aby zmierzyć zawartość odpowiednio fenoli, flawonoidów, fenylopropanoidów i antocyjanów. Wyniki przeliczono wykorzystując absorbcję molową ( $\epsilon$ ) odpowiednich wzorców: kwas kawowy ( $CF\ 0,887\ M^{-1}cm^{-1}$ ) dla fenylopropanoidów, kwas chlorogenowy ( $CA\ 0,264\ M/cm$ ) dla fenoli, kwercetynę ( $Q\ 0,513\ M/cm$ ) dla flawonoli i cyjanidynę ( $C\ 0,645\ M/cm$ ) dla antocyjanów. Pomiaru wykonano w trzech powtórzeniach.

### 3.2.2. Aktywność antyoksydacyjna

Aktywność antyoksydacyjną ziołowych naparów określono za pomocą kationorodnika ABTS (2,2-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) oraz wolnego rodniaka DPPH (1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl), według metody opisanej odpowiednio przez Millera i in. (1996) i Branda Williamsa (Pękał 2015). W przypadku określania pojemności antyoksydacyjnej względem rodniaka DPPH absorbcję mierzono w 10 minucie po dodaniu roztworu rodniaka (3 ml 0,1 M DPPH) do 1 ml ekstraktu, przy długości fali 516 nm. W przypadku wykorzystania rodniaka ABTS, absorbcję zmierzono po upływie 10 minut od zmieszania 1 ml naparu ziołowego i 2 ml roztworu ABTS, przy długości fali 734 nm. Pomiaru dokonano w trzech powtórzeniach, a aktywność przeciwutleniającą wyrażono w  $\mu M$  Troloxu na ml naparu oraz 1 g suszu.

Określenie aktywności przeciwutleniającej metodą FRAP przeprowadzono według Benziego i Straina (1996). Do 0,4 ml ekstraktu z ziół dodano 3,6 ml odczynnika FRAP, który stanowił mieszaninę buforu octowego, chlorku żelaza(III)  $FeCl_3$ , roztworu TPTZ (roztwór żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny) w stosunku objętościowym 10:1:1 i próbę inkubowano przez 10 minut w temperaturze 37 °C. Po tym czasie próbę ochłodzono, odwirowano i zmierzono jej absorbcję przy 595 nm. Oznaczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach, a wynik wyrażono w  $\mu mol\ Fe^{2+}$  na ml naparu oraz  $\mu mol\ Fe^{2+}$  na g suszu.

## 3. Wyniki i dyskusja

### 3.1. Zawartość polifenoli ogółem (ZPO) i profil fenolowy

Związki fenolowe są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, szczególnie duże ilości tych substancji syntetyzowane są w tkankach roślinnych. Ze względu na obecność w swojej strukturze grup hydroksylowych wykazują one właściwości przeciwutleniające. Łatwo ulegają rozkładowi (np. przez utlenianie lub hydrolizę), mogą także tworzyć produkty kowalencyjne i niekowalencyjne kompleksy z różnymi typami cząsteczek (Dogan i in. 2005). Ponadto doniesiono, że związki fenolowe odgrywają ważną rolę w stabilizowaniu peroksydacji lipidów (Wu i in. 2022). Z tego względu istotne jest określenie całkowitej ilości tych związków w ekstraktach roślinnych, gdyż może to wskazywać na potencjalną możliwość ich leczniczego zastosowania. Zawartość związków fenolowych ogółem (ZPO) przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Zawartość polifenoli ogółem w badanych ziołach

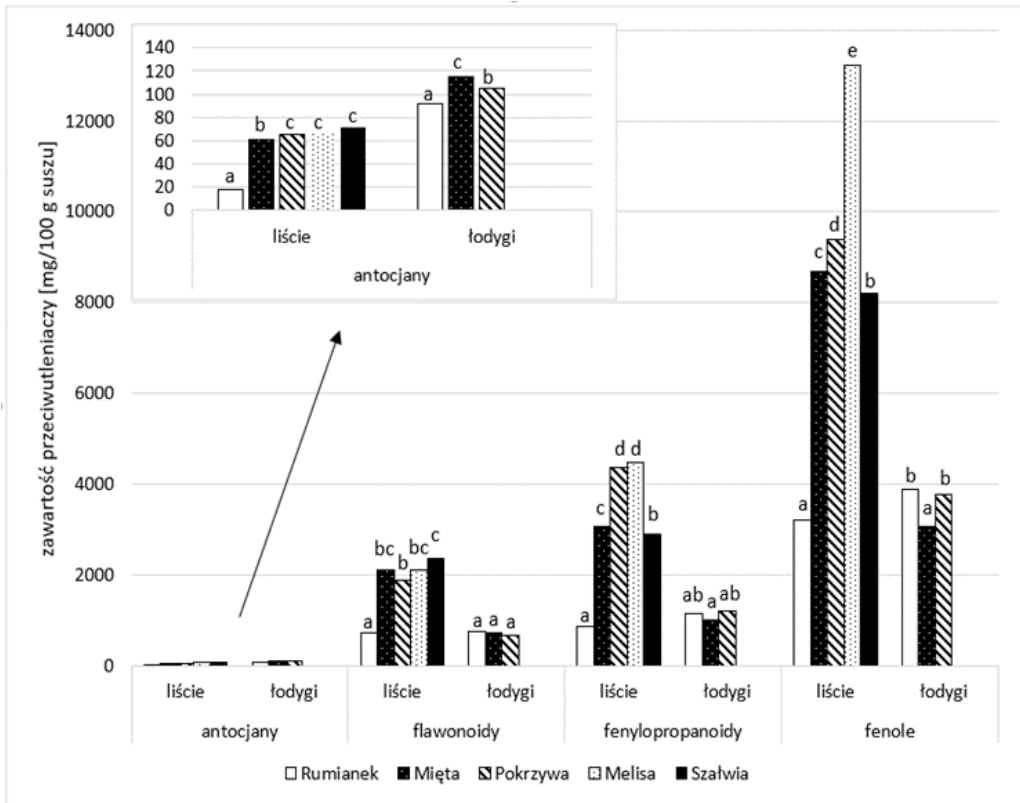
Gatunek rośliny zielarskiej	Liście		Łodygi	
	(mg/100 ml naparu)	(mg/100 g suszu)	(mg/100 ml naparu)	(mg/100 g suszu)
Rumianek lekarski	9,28 <sup>a</sup> ± 0,22	1131,66 <sup>a</sup> ± 29,85	5,92 <sup>a</sup> ± 0,12	667,35 <sup>a</sup> ± 49,04
Mięta pieprzowa	36,41 <sup>b</sup> ± 0,75	4524,95 <sup>b</sup> ± 107,72	9,93 <sup>b</sup> ± 0,48	1236,64 <sup>b</sup> ± 60,65
Pokrzywa zwyczajna	36,82 <sup>b</sup> ± 0,75	4482,98 <sup>b</sup> ± 83,38	10,12 <sup>b</sup> ± 0,50	1083,43 <sup>b</sup> ± 47,40
Melisa lekarska	64,42 <sup>c</sup> ± 0,23	7708,98 <sup>c</sup> ± 293,91	-	-
Szałwia lekarska	32,72 <sup>b</sup> ± 0,95	4048,72 <sup>b</sup> ± 121,08	-	-

Objaśnienia: Statystycznie istotne różnice (przy  $p \leq 0,05$ ) pomiędzy poszczególnymi ziołami w obrębie kolumny oznaczono różnymi literami. „-” – Brak danych.

Na wartość ZPO w ziołach ma wpływ genotyp rośliny oraz warunki jej uprawy (temperatura, opady, rodzaj gleby) (Marranzano i in. 2018). Najwięcej polifenoli ogółem zawierał ekstrakt z liści melisy – 64,42 mg/100 ml naparu (tab. 1). Ekstrakty sporządzone z liści mięty, pokrzywy oraz szalwii zawierały porównywalną do siebie ilość związków fenolowych. Poziom omawianych związków w tych ziołach był o ponad połowę niższy od zawartości jaką oznaczono w melisie (dla szalwii ok. 51%, dla mięty i pokrzywy ok. 57%). Najmniejszą ilość ZPO odnotowano dla naparu z liści rumianku – zaledwie 9,28 mg/100 ml. Porównując ZPO w liściach oraz łodygach można stwierdzić, że znacznie większe ilości tych związków znajdowały się w liściach. Rumianek w liściach zawierał ok. 36% więcej polifenoli niż w łodygach, a mięta i pokrzywa – aż 72%. W literaturze istnieje wiele doniesień na temat zawartości polifenoli ogółem w samych liściach czy ziele różnych roślin zielarskich. Niestety wyników otrzymanych przez różnych autorów najczęściej nie można wprost porównać m.in. ze względu na rodzaj ekstraktu używany do oznaczeń (ekstarhentem bywa etanol, metanol, chloroform, woda oraz mieszaniny tych roztworów) lub jednostkę, uzależnioną od użytego wzorca, w której wyrażana jest ZPO (mg GAE (równoważnik kwasu galusowego)/g, mg CAE (równoważnik kwasu chlorogenowego)/g, mg CFE (równoważnik kwasu kawowego)/g, mg RE (równoważnik rutyny)/g, mg CTE (równoważnik katechiny)/g). I tak dla przykładu zawartość polifenoli ogółem w mięcie pieprzowej (ekstrakty etanolowe) wynosiła 0,4 mg RE/g, 272,9 mg GAE/g i 18,6 mg CTE/g rośliny a w ekstraktach wodnych wahała się od 42,0-63,0 mg GAE/g (Chrpova i in. 2010, Dogan i in. 2010, Fecka i Turek 2007, Gramza-Michalowska i in. 2011, Nickavar i in. 2008). Z kolei według Karaaslan (2021) wodny ekstrakt z rumianku, w zależności od metody ekstrakcji, wykazywał zawartość polifenoli ogółem w granicach 1,7-5,2 mg GAE/g, podczas gdy wodne ekstrakty z mięty i pokrzywy charakteryzowały się dużo wyższą zawartością tych związków – odpowiednio 42,0-63,0 mg GAE/g (Chrpova i in. 2010, Fecka i Turek 2007) i 10,7-27,0 mg GAE/g

(Flórez i in. 2022). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że ekstrakty z liści melisy są dwa razy bogatsze w polifenole ogółem niż ekstrakty z liści z szałwii. Badania Wyrostek i Kowalskiego (2021) wykazały, że wodne ekstrakty z mięty zawierają najwięcej polifenoli (1,1-1,4 mg GAE/ml) w stosunku do szałwii (0,80-1,17 mg GAE/ml) i rumianku (0,21-0,49 mg GAE/ml). Podobną tendencję odnotowano w niniejszej pracy. Również badania Bieżanowskiej-Kopeć i Piątkowskiej (2022) wykazały, że ekstrakty z melisy zawierają dużo więcej polifenoli ogółem niż ekstrakty z szałwii, bez względu na to, czy ekstrakcji poddane są świeże zioła czy liofilizowane.

Różnorodne właściwości chemiczne, fizyczne oraz wielokierunkowa aktywność biologiczna związków polifenolowych, jest wynikiem ich zróżnicowanej struktury. Zawartości poszczególnych grup związków polifenolowych w badanych roślinach zielarskich przedstawiono na rysunku 1. Zawartość antocyjanów w ekstraktach z liści wahała się od 17,95 mg/100 g do 70,99 mg/100 g suszu, a z łodyg od 91,43 mg/100 g do 114,89 mg/100 g suszu. Zawartość tych związków w łodygach malała zgodnie z szeregiem: mięta > pokrzywa > rumianek a dla liści: szałwia > melisa > pokrzywa > mięta > rumianek. Zawartość antocyjanów w łodygach mięty oznaczono na poziomie 114,89 mg/100 g suszu i była to wartość najwyższa wśród badanych roślin. Ilość antocyjanów w łodygach rumianku i melisy była odpowiednio o 20% i o 8% niższa niż w mięcie. Najwyższą zawartość antocyjanów w liściach zanotowano w przypadku szałwii, nieco mniej tych związków odnotowano w przypadku liści melisy. Dla rumianku zawartość antocyjanów była najniższa spośród badanych liści, tak jak to miało miejsce w łodygach. W liściach tej rośliny zawartość antocyjanów stanowiła niecałe 20% ilości oznaczonej w łodydze. W przypadku mięty i pokrzywy różnica zawartości antocyjanów między liśćmi a łodygami wyniosła odpowiednio 53% i 64%. W pozostałych analizowanych grupach związków polifenolowych (flawonoidy, fenylpropanoidy i polifenole) zależność między ich zawartością w łodygach i liściach wszystkich ziół była z reguły odwrotna niż to zanotowano w przypadku antocyjanów. Zawartość flawonoidów w ekstraktach z liści badanych ziół wahała się w granicach od 722,25 mg/100 g (dla rumianku) do 2359,11 mg/100 g suszu (dla szałwii). W przypadku łodyg najwyższą wartość odnotowano dla rumianku (754,84 mg/100 g) i była ona wyższa niż dla liści tej rośliny. W przypadku łodyg mięty i pokrzywy ilość flawonoidów była niższa niż w liściach o ok. 65%. Susz z liści mięty oraz melisy charakteryzował się zbliżonym poziomem flawonoidów (odpowiednio 2104,52 i 2125,11 mg/100 g).



Rysunek 1. Zawartość antocyjanów, flawonoidów, fenylopropanoidów i fenoli w suszonych liściach i łodygach badanych ziół

Objaśnienia: Statystycznie istotne różnice (przy  $p \leq 0,05$ ) pomiędzy poszczególnymi ziołami w zakresie danego parametru oznaczono różnymi literami (a-e).

W pracy Kałwa i Wyrostek (2018) wykazano, iż zawartość flawonoidów w naparze sporządzonym z melisy lekarskiej kupionej w handlu wynosi 15,7 mg/100 g sm, w przeliczeniu na epikatechinę. Z kolei Kazimierczak i in. (2011) w swojej pracy wykazali, że zawartość tych związków w melisie pochodzącej z uprawy ekologicznej wynosi 42,49 mg/100 g suchej masy, co po przeliczeniu na napar daje wartość 8,49 mg/100 ml. Przedstawione dane literaturowe obrazują znacznie niższe zawartości flawonoidów niż uzyskano w pracy. Jak wspomniano powyżej rozbieżność wyników może być związana z wieloma czynnikami, m.in.: odmianą rośliny, sposobem jej uprawy, warunkami klimatycznymi, sposobem suszenia, warunkami przechowywania czy metodą ekstrakcji. Najwięcej fenylopropanoidów zawierał susz z liści pokrzywy oraz melisy (odpowiednio 4354,92 i 4485,93 mg/100 g), a najmniej susz z łodyg mięty (998,47 mg/100 g). Wśród liści badanych ziół najmniej fenylopropanoidów odnotowano dla rumianku (865,66 mg/100 g). Dla mięty i pokrzywy w suszu z łodyg odnotowano mniej fenylopropanoidów niż w suszu z liści odpowiednio o 68% i o 72%. Dla rumianku zauważono 25,5% wzrost zawartości tych związków w łodygach w stosunku do liści. Wśród liści badanych ziół najwięcej fenoli odnotowano dla suszu z melisy

(13229,45 mg/100 g), następnie dla suszu z liści pokrzywy (mniej o 3847,30 mg). Najmniej fenoli otrzymano dla rumianku (3213,62 mg/100 g). Zawartość fenoli w łydygach wahała się od 3057,39 mg/100 g dla pokrzywy do 3879,26 mg/100 g dla rumianku. Ilość fenoli w łydygach rumianku była wyższa niż w liściach w przeciwieństwie do mięty i pokrzywy. Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że zawartość związków polifenolowych w ekstraktach ziołowych była uzależniona od części rośliny, bowiem z reguły wyższą zawartość wszystkich grup związków fenolowych odnotowano dla liści niż dla łydyg. Wyjątek stanowił rumianek, dla którego zawartość flawonoidów w liściach i łydygach była porównywalna, a zawartość fenylopropanoidów i polifenoli w łydygach była wyższa niż w liściach. Güder i Korkmaz (2012) w swojej pracy badali właściwości przeciwutleniające różnych części pokrzywy zwyczajnej. Według autorów najwyższa całkowita zawartość polifenoli wystąpiła w nasionach. W korzeniach i kwiatach pokrzywy odnotowano niższe wartości ZPO, a najniższą ilość polifenoli ogółem oznaczono w liściach. W przypadku zawartości flawonoidów w ekstraktach z pokrzywy autorzy odnotowali dokładną odwrotną zależność. Najwięcej flawonoidów oznaczono w kwiatach, mniej w liściach i korzeniach a najmniej w nasionach.

### 3.2. Aktywność antyoksydacyjna względem rodnika DPPH, ABTS i metodą FRAP

Metabolizm oksydacyjny jest niezbędny do przeżycia komórek, a jego skutkiem jest wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT), które w warunkach stresu oksydacyjnego mogą indukować niekorzystne dla organizmu zmiany oksydacyjne (m.in. utlenianie DNA, lipidów i białek). Do endogennych mechanizmów obronnych należą enzymy, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa i katalaza. Ponadto duże znaczenie mają dostarczanie wraz z pożywieniem przeciwutleniaczy. Do pomiaru aktywności przeciwutleniającej stosowane są różne metody, przy czym istotnym jest uwzględnienie m.in. stężenia reagentów, czasu reakcji, czy pH, które wpływają na uzyskane wyniki. Do obiektywnej oceny pojemności przeciwutleniającej wymagane są różne testy. Z tych powodów ekstrakty badanych ziół analizowano przy użyciu trzech testów, takich jak FRAP, ABTS i DPPH.

Wartości potencjału przeciwutleniającego liści badanych ziół mierzonego względem rodnika DPPH wahały się w granicach od 238,59  $\mu\text{M}$  Troloxu/g do 3393,00  $\mu\text{M}$  Troloxu/g, co odpowiada % wygaszenia rodnika w zakresie od 2,7 do 39,6% (tab. 2). Aktywność antyoksydacyjna ziół rosła zgodnie z szeregiem: rumianek lekarski > mięta pieprzowa = pokrzywa zwyczajna = szalwia lekarska > melisa lekarska. W pracy Wyrostek i Kowalskiego (2021) odnotowano spadek potencjału antyoksydacyjnego względem rodnika DPPH w następującej kolejności: mięta (8,71-10,78 mM Troloxu/ml) > szalwia (7,64-11,29 mM Troloxu/ml) > rumianek (0,87-2,30 mM Troloxu/ml). W przypadku pozostałych ziół nie zauważono istotnej różnicy pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną względem DPPH.

Potencjał przeciwutleniający liści względem rodnika ABTS również zmieniał się w szerokim zakresie: od 1047,74  $\mu\text{M}$  Troloxu/g do 5139,42  $\mu\text{M}$  Troloxu/g. Najniższą i najwyższą

wartość aktywności względem ABTS odnotowano dla tych samych ziół, dla których wykazano względem DPPH (wartość najniższa- rumianek lekarski, wartość najwyższa – melisa lekarska). W przypadku pozostałych ziół najwyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowała się mięta pieprzowa, a najniższą szalwia lekarska.

**Tabela 2.** Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z liści badanych ziół względem rodników DPPH i ABTS

Gatunek rośliny	DPPH		ABTS	
	( $\mu\text{M}$ Troloxu/ ml naparu)	( $\mu\text{M}$ Troloxu/ g suszu)	( $\mu\text{M}$ Troloxu/ ml naparu)	( $\mu\text{M}$ Troloxu/ g suszu)
Rumianek lekarski	1,91 <sup>a</sup> ± 0,15	238,59 <sup>a</sup> ± 18,32	8,38 <sup>a</sup> ± 0,09	1047,74 <sup>a</sup> ± 10,83
Mięta pieprzowa	12,54 <sup>b</sup> ± 0,93	1567,3 <sup>b</sup> ± 116,36	25,90 <sup>c</sup> ± 0,28	3238,63 <sup>c</sup> ± 35,49
Pokrzywa zwyczajna	13,94 <sup>b</sup> ± 0,26	1741,93 <sup>b</sup> ± 32,67	23,56 <sup>bc</sup> ± 0,46	2944,77 <sup>bc</sup> ± 57,04
Melisa lekarska	27,14 <sup>c</sup> ± 0,55	3393,00 <sup>c</sup> ± 68,20	41,11 <sup>d</sup> ± 0,37	5139,42 <sup>d</sup> ± 45,88
Szałwia lekarska	11,65 <sup>b</sup> ± 0,25	1456,38 <sup>b</sup> ± 31,09	21,11 <sup>b</sup> ± 0,32	2639,18 <sup>b</sup> ± 40,59

Objaśnienia: jak pod tabelą 1

Potencjał antyoksydacyjny łądyg badanych ziół względem rodnika DPPH i ABTS mieścił się w granicach od 50,91  $\mu\text{M}$  do 246,09  $\mu\text{M}$  Troloxu/g (DPPH) i od 647,95  $\mu\text{M}$  do 905,17  $\mu\text{M}$  Troloxu/g (ABTS) i był dużo niższy niż w przypadku liści tych ziół (tab. 3). Najwyższe wartości aktywności względem tych rodników odnotowano dla pokrzywy zwyczajnej, a najniższe dla rumianku lekarskiego. Procent wygaszenia rodnika DPPH przez łądygi rumianku wyniósł 2,5%, a przez łądygi pokrzywy 15,9%. W przypadku rodnika DPPH różnica w aktywności między liśćmi a łądygami rumianku wyniosła 79%. Dla pokrzywy była to wartość 85%. Rozpatrując rodnik ABTS zanotowane obniżenie aktywności między liśćmi a łądygami było nieco mniejsze i wyniosło odpowiednio 38% i 69% dla rumianku i pokrzywy.

Aktywność antyoksydacyjna mierzona metodą FRAP dla liści badanych ziół wahała się w granicach od 17,59 do 201,55  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$  co odpowiada wartościom 0,14-1,61  $\mu\text{mol Fe}^{2+}$  w przeliczeniu na 100 ml naparu (tab. 4). Najniższą i najwyższą aktywność odnotowano odpowiednio dla liści rumianku lekarskiego i melisy lekarskiej. Potencjał oksydacyjny liści melisy lekarskiej mierzony tą metodą był o 40% wyższy niż liści szalwii lekarskiej. Porównując ekstrakty wykonane z różnych części nadziemnych ziół zauważyć można było znaczące obniżenie aktywności antyoksydacyjnej w łądygach, w stosunku do liści. Najmniejszy spadek (ok 35%) odnotowano dla rumianku lekarskiego a największy, bo aż 77% dla pokrzywy zwyczajnej. W pracy Wyrostek i Kowalskiego (2021) odnotowano spadek potencjału oksydoredukcyjnego mierzony metodą FRAP w następującej kolejności:

szałwia (57,15-70,31 mM Fe<sup>2+</sup>/ml) > mięta (34,77-54,79 mM Fe<sup>2+</sup>/ml) > rumianek (14,37-19,60 mM Fe<sup>2+</sup>/ml), co jest zgodne z wynikami otrzymanymi w omawianej pracy.

**Tabela 3.** Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z łodyg badanych ziół względem rodnika DPPH i ABTS

Gatunek rośliny	DPPH		ABTS	
	(μM Troloxu/ ml naparu)	(μM Troloxu/ g suszu)	(μM Troloxu/ ml naparu)	(μM Troloxu/ g suszu)
Rumianek lekarski	0,41 <sup>a</sup> ± 0,01	50,91 <sup>a</sup> ± 0,82	5,18 <sup>a</sup> ± 0,09	647,95 <sup>a</sup> ± 11,39
Mięta pieprzowa	1,44 <sup>b</sup> ± 0,09	180,09 <sup>b</sup> ± 11,26	6,41 <sup>b</sup> ± 0,05	801,18 <sup>b</sup> ± 6,43
Pokrzywa zwyczajna	1,97 <sup>c</sup> ± 0,16	246,09 <sup>c</sup> ± 20,39	7,24 <sup>c</sup> ± 0,03	905,17 <sup>c</sup> ± 3,38
Melisa lekarska	-	-	-	-
Szałwia lekarska	-	-	-	-

Objaśnienia: jak pod tabelą 1

**Tabela 4.** Potencjał antyoksydacyjny badanych ziół mierzony metodą FRAP

Gatunek rośliny	Liście		Łodygi	
	(μM Fe <sup>2+</sup> / ml naparu)	(μM Fe <sup>2+</sup> / g suszu)	(μM Fe <sup>2+</sup> / ml naparu)	(μM Fe <sup>2+</sup> / g suszu)
Rumianek lekarski	0,14 <sup>a</sup> ± 0,01	17,59 <sup>a</sup> ± 1,03	0,09 <sup>a</sup> ± 0,00	11,66 <sup>a</sup> ± 0,31
Mięta pieprzowa	0,82 <sup>c</sup> ± 0,04	102,28 <sup>c</sup> ± 5,19	0,21 <sup>c</sup> ± 0,01	25,92 <sup>c</sup> ± 1,42
Pokrzywa zwyczajna	0,69 <sup>b</sup> ± 0,02	86,78 <sup>b</sup> ± 1,92	0,16 <sup>b</sup> ± 0,01	20,31 <sup>b</sup> ± 0,65
Melisa lekarska	1,61 <sup>e</sup> ± 0,10	201,55 <sup>e</sup> ± 13,06	-	-
Szałwia lekarska	0,94 <sup>d</sup> ± 0,03	119,28 <sup>d</sup> ± 0,22	-	-

Objaśnienia: jak pod tabelą 1

Zgodnie z wynikami niniejszego badania aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą FRAP dla liści poszczególnych ziół była dobrze skorelowana z całkowitą zawartością polifenoli ( $r = 0,941$ ). Również aktywność antyoksydacyjna liści ziół względem rodników ABTS i DPPH była silnie skorelowana z ogólną zawartością polifenoli (odpowiednio  $r = 0,994$  i  $r = 0,996$ ). W pracy Najda (2017) badano aktywność przeciwutleniającą ekstraktu mięty pieprzowej w zależności od odmiany. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że na sumaryczną aktywność przeciwutleniającą znacząco wpływała



obecność flawonoidów w surowcach, co potwierdza również w swojej pracy Cosio i in. (2016). Chrpova i in. (2010) analizowali aktywność przeciwutleniającą niektórych ziół z rodziny *Lamiaceae*, w tym mięty pieprzowej i szafwii lekarskiej i podali, że zioła mają silne właściwości antyrodnikowe (DPPH) i wykazali dobrą korelację tego parametru ( $r = 0,958$ ) z całkowitą zawartością polifenoli. Elmastaş i in. (2015), badając 13 odmian różnych gatunków mięty również wykazali, że roślina ta cechuje się wysokim potencjałem przeciwutleniającym (wartość FRAP od 280,7 do 577,1  $\mu\text{mol Trolox/g sm}$ ) i dowiedli, że aktywność FRAP była skorelowana z całkowitą zawartością fenoli ( $r = 0,77$ ). Z tego względu, rozpatrując właściwości przeciwutleniające ziół należy mieć na uwadze (poza metodyką oznaczenia) fazę wzrostu rośliny, w której ją zebrano, gdyż ma to bezpośredni wpływ na skład fenolowy otrzymanych ekstraktów, a co za tym idzie na ich aktywność biologiczną (Generalić i in. 2012). Również przetwarzanie rośliny (np. suszenie) w odpowiednich warunkach jest kluczowym krokiem w celu zachowania ich maksymalnej wartości przeciwutleniającej (Stanisavljevic i in. 2012).

Niniejsze badania potwierdziły, że zdolność do zmiatania wolnych rodników DPPH i ABTS oraz siła redukcji mierzona metodą FRAP zależą od części rośliny, z której przygotowano ekstrakt do badania. W swojej pracy Najda (2017) analizowała aktywność przeciwutleniającą ekstraktu z zela (liście i łodygi) i liści mięty pieprzowej, w zależności od odmiany. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż niezależnie od odmiany największą aktywność wykazał napar z liści mięty pieprzowej (średnia FRAP 135,4  $\mu\text{mol Troloxu/g}$  próbki) aniżeli ekstrakt z zela tej samej rośliny (średnia FRAP 71,1  $\mu\text{mol Troloxu/g}$  próbki). Güder i Korkmaz (2012) w swojej pracy badali właściwości przeciwutleniające różnych części pokrzywy zwyczajnej. Według cytowanych autorów antyoksydacyjny wpływ ekstraktów wodno-alkoholowych pokrzywy na rodnik DPPH zmniejszał się w następującym szeregu: nasiona > korzenie > kwiaty > liście. W tej samej pracy aktywność antyoksydacyjna mierzona metodą FRAP zmieniała się w szeregu: kwiaty > nasiona > liście > korzenie.

#### 4. Podsumowanie

W dzisiejszych czasach rośnie zainteresowanie wykorzystaniem naturalnych przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego ze względu na ich bezpieczniejszy charakter i korzyści lecznicze w porównaniu z preparatami syntetycznymi. W pracy badano wodne ekstrakty pięciu popularnych w Polsce ziół leczniczych jako obiecującego źródła związków przeciwutleniających: rumianku lekarskiego, mięty pieprzowej, pokrzywy zwyczajnej, melisy lekarskiej i szafwii lekarskiej.

Ekstrakty wodne wszystkich badanych ziół wykazały silne działanie przeciwutleniające, wyrażone poprzez zawartość polifenoli ogółem, siłę redukującą i zmiatania wolnych rodników. Wysokim potencjałem przeciwutleniającym cechowały się liście, w szczególności melisy lekarskiej i szafwii lekarskiej. Najniższą aktywnością antyoksydacyjną, pod względem każdego badanego parametru, charakteryzował się rumianek lekarski. Łodygi, bez względu na badany gatunek zioła, odznaczały się z reguły dużo niższą zawartością związków polifenolowych, słabszym zmiataniem wolnych rodników i niższą siłą redukującą. W

niniejszej pracy wykazano również wysoką korelację między poziomem aktywności antyoksydacyjnej a zawartością polifenoli ogółem.

W literaturze znaleźć można wiele danych dotyczących potencjału antyoksydacyjnego ziół leczniczych i kulinarnych, które często wydają się być ze sobą niezgodne. Na te pozornie sprzeczne wyniki ma wpływ wiele czynników. Bez ustandaryzowanego podejścia nie jest możliwe określenie spójności porównywanych wyników pomiędzy różnymi pracami. Chociaż wiadomo, że warunki uprawy rośliny, metoda ekstrakcji, zastosowany rozpuszczalnik mają bezpośredni wpływ na skład i proporcje ekstrahowanych związków, otrzymane wyniki badań wykazały, że analizowane gatunki ziół, biorąc pod uwagę ich znaczące działanie przeciwutleniające, mogą być stosowane w środkach farmaceutycznych, produktach spożywczych i kosmetycznych, jako źródło przeciwutleniaczy.

*Niniejsze badania sfinansowano z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki dla Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie na rok 2022.*

## Literatura

1. Ahn J., Alford A. R., Niemeyer E. D. (2020). Variation in phenolic profiles and antioxidant properties among medicinal and culinary herbs of the *Lamiaceae* family. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 1720–1732.
2. Baniwal P., Mehra R., Kumar N., Sharma S., Kumar S. (2021). Cereals: Functional constituents and its health benefits. *The Pharma Innovation*, 10 (3), 1–7.
3. Benzie I. F. F., Strain J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “antioxidant power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
4. Bieżanowska-Kopeć R., Piątkowska E. (2022). Total polyphenols and antioxidant properties of selected fresh and dried herbs and spices. *Applied Sciences*, 12(10), 4876.
5. Choi I. S., Cha H. S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19, 6811–16823.
6. Chrpova D., Kourimska L., Gordon M. H., Hermanova V., Roubickova I., Panek J. (2010). Antioxidant Activity of Selected Phenols and Herbs Used in Diets for Medical Conditions. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(4), 317–325.
7. Cosio M. S., Buratti S, Mannino S., Benedetti S. (2006). Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the *Labiatae* family. *Food Chemistry*, 97,725-731.
8. Dogan S., Arslan O., Ozen F. (2005). Polyphenol oxidase activity of oregano at different stages. *Food Chemistry*, 91, 341–345.
9. Dogan S., Diken M. E., Dogan. M. (2010). Antioxidant, phenolic and protein contents of some medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2566–2573.
10. Dragland S., Senoo H., Wake K., Holte K., Blomhoff R. (2003). Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *The Journal of Nutrition*, 133, 1286-1290.

11. Elmastaş M., Telci I., Akşit H., Erenler R. (2015). Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices. *Turkish Journal of Biochemistry*, 40(6), 456–462.
12. Escudero N. L., Albarracín G. J., Lopez R. V. L., Gimenez M. S. (2011). Antioxidant activity and phenolic content of flour and protein concentrate of *Amaranthus Cruentus* seeds. *Journal of Food Biochemistry*, 35(4), 1327–1341.
13. Fecka I., Turek S. (2007). Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from Lamiaceae: peppermint, melissa, and sage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10908–10917.
14. Flórez M., Cazón P., Vázquez M. (2022). Antioxidant extracts of nettle (*Urtica dioica*) leaves: evaluation of extraction techniques and solvents. *Molecules*, 27, 6015
15. Fukumoto L. R., Mazza G. (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597-3604.
16. Generalić I., Skroza D., Surjak J., Možina S. S., Ljubenković I., Katalinić A., Simat V., Katalinić V. (2012). Seasonal variations of phenolic compounds and biological properties in sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry and Biodiversity*, 9, 441–457.
17. Gramza-Michalowska A., Sidor A., Hes M. (2011). Herb extract Influence on the oxidative stability of selected lipids. *Journal of Food Biochemistry*, 35(6), 1723–1736.
18. Güder A., Korkmaz H. (2012). Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallr. and their mixture. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(3), 913–923.
19. Hacskaylo M. M. (1996). Culinary garden. W: Ober R. (red.) The national herb garden guidebook. Springfield, VA: The Herb Society of America, 79-93.
20. Kałwa K., Wyrostek J. (2018). Ocena zawartości związków biologicznie aktywnych oraz zawartość i skład olejku eterycznego w melisie lekarskiej (*Melissa officinalis* L.). *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego*, 73 (3-4), 54-65.
21. Karaaslan A. N. (2021). Investigation of antioxidant properties of chamomile consumed as herbal tea. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2), e15327.
22. Kasote D. M., Katyare S. S., Hegde M. V., Bae H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11, 982-991.
23. Kazimierczak R., Hallmann E., Sokołowska O., Rembiałkowska E. (2011). Zawartość związków bioaktywnych w roślinach zielarskich z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 56(3), 200-205.
24. Marranzano M., Rosa R. L., Malaguarnera M., Palmeri R., Tessitori M., Barbera A. C. (2018). Polyphenols: plant sources and food industry applications. *Current Pharmaceutical Design*, 24, 4125-4130.
25. Miller N. J., Sampson J., Candeias L. P., Bramley P. M., Rive-Evans C. A. (1996). Antioxidant activities of carotens and xanthophylls. *FEBS Letter*, 384, 240-242.

26. Najda A. (2017). Skład chemiczny i działanie przeciwutleniające ekstraktów z *Mentha x piperita* L. Postępy Fitoterapii, 18(4), 251-258.
27. Newerli-Guz J. (2016). Uprawa roślin zielarskich w Polsce. Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu, XVIII (3), 268-274.
28. Nickavar B., Alinaghi A., Kamalinejad M. (2008). Evaluation of the antioxidant properties of five mentha species. Iran Journal of Pharmacy Research, 7(3), 203-209.
29. Pękal A., Pyrzyńska K. (2015). Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 66(1), 58-62.
30. Singleton V. L., Orthofer R., Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299, 152-178.
31. Smith R. J., Winder M. L. (1996). Medicinal garden. W: Ober R. (red.) The National Herb Garden Guidebook. Springfield, VA: The Herb Society of America, 61-71.
32. Stanisavljevic D., Stojicevic S., Djordjevic S., Zlatkovic B., Velickovic D., Karabegovic I., Lasic M. (2012). Antioxidant activity, the content of total phenols and flavonoids in the ethanol extracts of *Mentha longifolia* (L.) Hudson dried by the use of different techniques. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 18, 411-420.
33. Sularz O., Koronowicz A., Smoleń S., Kowalska I., Skoczylas Ł., Liszka-Skoczylas M., Tabaszewska M., Pitala J. (2021). Anti- and pro-oxidant potential of lettuce (*Lactuca sativa* L.) biofortified with iodine by KIO<sub>3</sub>, 5-iodo- and 3,5-diiodosalicylic acid in human gastrointestinal cancer cell lines. RSC Advances, 11, 27547–27560.
34. Surh Y. J. (2006). Chemopreventive Phenolic Compounds in Common Spices. Taylor and Francis; New York, NY, USA.
35. Wu H., Bak K. H., Goran G. V., Tatiyaborworntham N. (2022). Inhibitory mechanisms of polyphenols on heme protein-mediated lipid oxidation in muscle food: New insights and advances. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1, 19.
36. Wyrostek J., Kowalski R. (2021). The effect of water mineralization on the extraction of active compounds from selected herbs and on the antioxidant properties of the obtained brews. Foods, 10(6), 1227.
37. Zhang B., Cunyao Pan C., Feng C., Yan C., Yu Y., Chen Z., Guo C., Wanga X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. Redox Report, 27(1), 45–52.

## Total polyphenol content and antioxidant potential of selected medicinal herbs grown in Poland

### Abstract

Oxidative stress and the associated damage to cellular components may lead to occurrence of pathological conditions in the body. Antioxidants that are supplied exogenously with food play a very important role in the fight against oxidative stress. In this study, the in vitro antioxidant potential of an extract from five herbs popular in Poland (chamomile, peppermint, nettle, lemon balm and sage) was examined, assessing their activity in the removal of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS). The herbal teas were also analyzed for the content of total polyphenols (ZPO), polyphenol profile and iron(III) reduction capacity (FRAP). The results showed that chamomile contains substances with antioxidant properties in the lowest amount among the tested herbs (ZPO in leaves 1131.66 mg/100 g of dried material). It is also characterized by the lowest values of DPPH, ABTS and FRAP parameters (DPPH 50.91  $\mu\text{M}$  Trolox/g, ABTS 647.95  $\mu\text{M}$  Trolox/g, FRAP 17.59  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ /g). Lemon balm leaves had the highest antioxidant potential in terms of all tested parameters (ZPO 7708.98 mg/100 g, DPPH 3393.00  $\mu\text{M}$  Trolox/g, ABTS 5139.42  $\mu\text{M}$  Trolox /g, FRAP 201.55  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ /g). The polyphenol profile showed the lowest share of anthocyanins and the highest share of phenols in each of the tested herbs. A high correlation was also demonstrated between FRAP, DPPH and ABTS and the total polyphenol content for all herbs. The leaves of the tested plants (except chamomile) were characterized by a higher antioxidant potential than their stems.

## Przygotowanie i badanie wybranych właściwości reologicznych hydrożeli alginianowych z dodatkiem miodu

Urszula Goik

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego,  
urszula.goik@urk.edu.pl*

### Streszczenie

Surowce pochodzenia naturalnego mające duży wpływ na polepszenie stanu zdrowia skóry i utrzymanie jej w dobrej kondycji są chętnie wykorzystywane do produkcji preparatów kosmetycznych, farmaceutycznych oraz produktów spożywczych. Alginian sodu, będący składnikiem naturalnym i wykazującym szereg korzystnych właściwości zdrowotnych znajduje szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Przede wszystkim jest on nietoksyczny, nierakotwórczy, nie powoduje odczynu alergicznego oraz jest kompatybilny z układami biologicznymi. Innymi produktami naturalnymi znanymi od wieków są produkty pszczele, które znalazły zastosowanie nie tylko w leczeniu, ale również jako składniki żywności oraz surowce kosmetyczne. Wpływ produktów pszczelich na skórę został również potwierdzony licznymi badaniami, a zastosowanie miodu w gojeniu ran zwraca uwagę na jego wartości lecznicze. Otrzymanie hydrożeli na bazie alginianu o dobrych właściwościach mechanicznych oraz upakowanej strukturze możliwe jest do wykorzystania w produkcji opatrunków, w kosmetyce oraz przemyśle spożywczym.

W pracy badano wybrane właściwości reologiczne hydrożeli alginianowych bez i z dodatkiem miodu pszczelego, w zależności od stężenia roztworu alginianu sodu oraz stężeń czynników sieciujących. Do sieciowania alginianu sodu wykorzystano pantotenian wapnia lub mleczan wapnia. Pomiary wykonano za pomocą reometru firmy Haake RS-6000, stosując układ płytka-płytko o średnicy 35 (mm) i szczelinie 1,2 (mm). Dla wszystkich analizowanych żeli moduł zachowawczy  $G'$  był wyższy niż moduł stratności  $G''$  we wszystkich badanych zakresach częstotliwości. Dodatek miodu pszczelego miał wpływ na właściwości reologiczne w badanym zakresie stężeń, powodował on wzrost modułów  $G'$  i  $G''$  hydrożeli sieciowanych PW we wszystkich analizowanych stężeniach.

**Słowa kluczowe:** alginian sodu, hydrożel, właściwości reologiczne, miód pszczeli

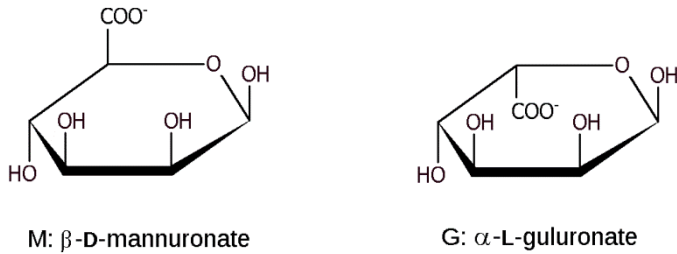
### 1. Wprowadzenie

Wzrost poziomu wiedzy żywieniowej konsumentów oraz większe wymagania jakościowe powodują, że przemysł spożywczy sięga po innowacyjne metody i technologie w produkcji żywności. W związku z tym poszukuje się produktów naturalnych, bogatych w substancje odżywcze.

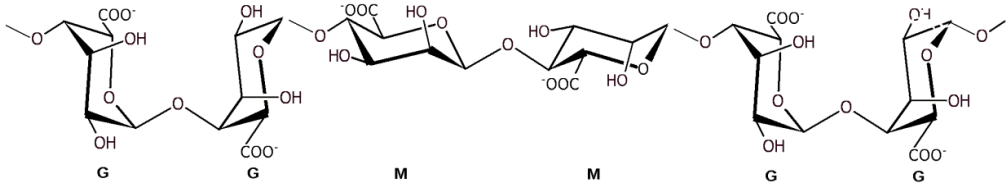
Żele hydrofilowe określane również, jako hydrożele to trójwymiarowe sieci polimerowe utrzymywane razem przez usieciowane wiązania kowalencyjne i słabe siły spójności

w postaci wiązań wodorowych lub wiązań jonowych. Tego typu hydrofilowe materiały polimerowe mają naturalną zdolność do pęcznienia w wodzie i są zdolne do wchłonięcia i zatrzymania więcej niż 10% swojej masy wody w strukturze żelu (Mitura i in. 2020). Wysoka zdolność absorpcji wody związana jest z hydrofilowymi grupami funkcyjnymi w strukturze polimeru, takimi jak np.: grupy aminowe (-NH<sub>2</sub>) czy hydroksylowe (-OH) (Peppas i in. 2000). Ta wysoka zdolność do pęcznienia powoduje, że hydrożele znajdują szerokie zastosowanie w medycynie regeneracyjnej oraz w wielu innych zastosowaniach biomedycznych, również w przemyśle spożywczym oraz kosmetycznym. Materiały hydrożelowe mają pewne właściwości ważne w zastosowaniach biomedycznych, ponieważ w naturalnych tkankach są w stanie naśladować trójwymiarowe środowisko macierzy zewnątrzkomórkowej. Do zastosowań medycznych czy kosmetycznych można wprowadzać je w postaci mikrokapsułek i mikrocząstek. Po wprowadzeniu innych składników do hydrożeli, mogą tworzyć preparat kosmetyczny, który może znaleźć szereg miejscowych zastosowań na powierzchni ciała i włosów (Kupikowska-Stobba i Lewińska 2020, Lee i Mooney 2012). Hydrokoloidy w żywności najczęściej znajdują zastosowanie przy produkcji np.: budyni, kisielu, galaretek, dżemów, zup, jogurtów czy majonezu (Pilarska 2016). Coraz częściej sięgamy po produkty niskoenergetyczne, niskotłuszczowe, ale przy tym wartościowe i dobre jakościowo. Wśród tzw. mimetyków tłuszczu, czyli jego niskokalorycznych odpowiedników o właściwościach teksturotwórczych i emulgujących, dominują produkty hydrokoloïdowe. Ich zastosowanie jest popularne w żywności typu light (Pilarska 2016). Uwzględniając zmieniające się trendy żywieniowe, poszukuje się coraz to bardziej nowatorskich form wykorzystania hydrokoloïdów, biorąc pod uwagę ich funkcje odżywcze i nutraceutyczne. W przemyśle spożywczym do produkcji żeli stosowane są polisacharydowe lub białkowe związki hydrokoloïdowe (Renard i in. 2006). Wpływają one na rozpuszczalność, wykazują zdolność obniżania napięcia powierzchniowego oraz właściwości zagęszczające i żelujące, a wytworzone z nimi żele, odznaczają się wysoką stabilnością (Krystyjan 2015). Hydrożele stosowane w preparatach kosmetycznych i produktach spożywczych mogą bazować na wielu biopolimerach, takich jak: kolagen, żelatyna, kwas hialuronowy, alginian, chitozan, guma ksantanowa, pektyna, skrobia, celuloza i jej pochodne. Hydrożele na bazie biopolimerów wykorzystywane są do opracowywania nowych produktów zarówno spożywczych, kosmetycznych jak również farmaceutycznych.

Alginiiany to naturalne polisacharydy otrzymywane tradycyjnie z brunatnych wodorostów morskich. W algach brunatnych alginian pełni głównie funkcję składnika strukturalnego macierzy międzykomórkowej, zapewniając wytrzymałość i elastyczność otaczającej tkanki. Ze względu na swoją nietoksyczność są szeroko stosowane w przemyśle spożywczym (jako dodatek do żywności E 401), farmaceutycznym, kosmetycznym oraz w medycynie. Należą do rodziny liniowych kopolimerów posiadających bloki 1,4-połączonych reszt kwasu  $\beta$ -D-mannuronowego (M) i  $\alpha$ -L-guluronowego (G) (rys. 1 i 2). W zależności od źródła, z którego są pozyskiwane, różnią się zawartością M, G oraz długością każdego bloku, obecnie znanych jest około 200 różnych alginianów (Tonnesen i Karlsen 2002).



**Rysunek 1.** Elementy bloku  $\beta$ -D-mannuronowego i bloku  $\alpha$ -L-guluronowego



**Rysunek 2.** Konformacja bloków pochodzących od reszt kwasu  $\beta$ -D-mannuronowego (M) i kwasu  $\alpha$ -L-guluronowego (G)

Czynnikami mającymi wpływ na fizyczne właściwości alginianu oraz hydrożeli powstających z jego udziałem są budowa, czyli stosunek M/G, sekwencja, długość bloku G i masa cząsteczkowa (George i Abraham 2006). Alginian jest zdolny do tworzenia żeli w obecności kationów dwuwartościowych (np.  $\text{Ca}^{2+}$ ), a alginiany z większą zawartością bloków G mogą skuteczniej wiązać kationy i tym samym tworzyć sztywniejsze żele. Bloki G mają możliwość tworzenia wiązania z jonami dwuwartościowymi, odpowiadając za ich właściwości żelujące (Brownlee i in. 2009). Alginiany pochodzące z różnych źródeł mają odmienną strukturę chemiczną i charakteryzują się niejednorodnością składu i jakości, częściowo wynikającą z różnic środowiskowych. Alginian bakteryjny wytwarzany z *Azotobacter* odznacza się wysokim stężeniem bloków G, a jego żele charakteryzują się stosunkowo dużą sztywnością (Hay i in. 2010). Optymalne właściwości fizyczne żelu zapewniają odpowiednią stabilność oraz szybkość uwalniania składnika aktywnego z hydrożelu. Hydrożele na bazie alginianu sodu otrzymuje się różnymi metodami. Sieciowanie jonowe to metoda przygotowania żeli powstałych z wodnego roztworu alginianu i połączenie roztworu z jonowymi składnikami sieciującymi, takimi jak kationy dwuwartościowe np.:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , lub kationy trójwartościowe  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  (Kaklamania i in. 2014). Budowa bloków guluronianowych umożliwia wysoki stopień koordynacji jonów dwuwartościowych, dlatego kationy dwuwartościowe łączą się głównie z blokami guluronianowymi łańcuchów alginianowych. Bloki guluronianowe polimeru tworzą połączenia z sąsiednimi blokami guluronianowymi łańcuchów polimerowych w modelu sieciowania typu egg-box, co skutkuje strukturą żelową (Hashemnejad i Kundu 2019). Popularnym i tanim środkiem stosowanym do jonowego sieciowania roztworów alginianu jest chlorek wapnia, który często prowadzi do szybkiego i mało kontrolowanego żelowania, ze względu na jego dobrą rozpuszczalność w wodzie.



Do powolnego żelowania wykorzystuje się słabo rozpuszczalne w wodzie sole wapniowe, a ich rozpuszczalność zwykle zwiększana jest przez obniżenie pH (Hashemnejad i Kundu 2016, Malektaj 2023). Duże znaczenie w kontrolowaniu jednorodności i wytrzymałości żelu przy użyciu kationów dwuwartościowych ma szybkość żelowania. Prowadząc spowolnione żelowanie otrzymujemy bardziej jednolite układy, a powstała struktura usieciowanej sieci jest bardziej uporządkowana, co prowadzi do uzyskania lepszych właściwości mechanicznych (Donati 2005, Kuo i Ma 2001). Żel alginianowy usieciowany jonowo „rozluźnia się” w wyniku przyłożonego naprężenia, gdy wiązania poprzeczne przekształcają się w innym miejscu, a woda jest wydzielana z żelu, co prowadzi do odkształcenia plastycznego. Przemieszczanie wody zachodzi również w układach żelowych usieciowanych kowalencyjnie, prowadząc do relaksacji naprężeń (Zhao i in. 2010).

Miód jest wytwarzany przez pszczoły z nektaru i spadzi. Służy pszczołom jako źródło energii. Wartość energetyczna miodu wynosi ok. 300 kcal/100g produktu. W miodzie oznaczono ok. 180 substancji chemicznych, przy czym ok. 80% jego masy stanowią węglowodany (sacharydy), które pełnią funkcje energetyczne i prebiotyczne. Ponadto znaleźć można aminokwasy, białka, związki lotne, składniki olejków eterycznych, kwasy organiczne, biopierwiastki, witaminy, związki flawonoidowe. Miód posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe, działa odkażająco, immunostymulująco, detoksykująco. Przyspiesza metabolizm komórkowy i procesy regeneracyjne. Dlatego jest wciąż pożądanym produktem spożywczym oraz surowcem kosmetycznym i farmaceutycznym. Smuga-Kogut i in. (2020) przeprowadzili badania hydrożeli alginianowych z dodatkiem pyłku pszczelego i miodu gryczanego, tworząc tzw. „kawior” z dodatkiem produktów pszczelich. Cytowani autorzy wykazali, że niezależnie od obecności dużych ilości wody, hydrożele zachowywały się jak elastyczne ciała stałe. Badania właściwości mechanicznych surowców, produktów, w tym również hydrożeli są ważnym wyznacznikiem jakości preparatów.

Celem pracy była analiza wpływu dodatku miodu pszczelego, stężenia alginianu oraz rodzaju i stężenia czynnika sieciującego na wybrane właściwości reologiczne hydrożeli alginianowych. Jako czynnik sieciujący wybrano mleczan wapnia (dodatek spożywczy E 327 i kosmetyczny) oraz pantotenian wapnia (surowiec farmaceutyczny, kosmetyczny oraz dodatek spożywczy).

## **2. Materiały i metody badań**

### **2.1. Materiał**

Do przygotowania próbek hydrożeli wykorzystano alginianu sodu (Sigma-Aldrich, Niemcy), pantotenian wapnia (Sigma-Aldrich, Niemcy), mleczan wapnia (Agnex, Polska), spadziowy miód pszczeli (z polskiej pasieki) oraz wodę dejonizowaną.

## 2.2. Metody badań

### 2.2.1. Przygotowanie hydrożeli alginianowych

W celu otrzymania żeli alginianowych sporządzono wodne roztwory alginianu sodu (AS) o stężeniach: 0,8 (%), 1,2 (%) oraz 1,6 (%) bez i z 5 (%) dodatkiem miodu pszczelego (MP), które przygotowano przy użyciu mieszadła magnetycznego w temperaturze 40 °C. Następnie przygotowano wodne roztwory pantotenu wapnia (PW) i mlecza wapnia (MW) o stężeniach: 0,8 (%), 1,2 (%) i 1,6 (%), które mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego w temperaturze 25 °C. Otrzymane roztwory AS umieszczano w membranach o średnicy 40 (mm), w ilości po 60 (ml), zanurzano w 300 (ml) roztworu PW lub MW o odpowiednim stężeniu i przechowywano przez 6 dni w temperaturze 6 °C. Po tym czasie wyciągnięto uformowane hydrożele z roztworu PW lub MW i przechowywano w wodzie destylowanej. Otrzymano 36 hydrożeli (rys. 3), które dzielono na krążki.



**Rysunek 3.** Przykład otrzymanego żelu alginianowego 1,2%AS–1,2%PW bez miodu pszczelego

Zawartości wody w otrzymanych hydrożelach obliczono ze wzoru poniżej:

$$S_p = \frac{(m_w - m_s)}{m_w} \cdot 100\%$$

gdzie:  $m_w$  masa wilgotna (g),  $m_s$  masa sucha (g).

Suchą masę oznaczono przy pomocy suszarki laboratoryjnej. Próbkę hydrożeli ważono w celu określenia masy wilgotnej, następnie suszono przez 48h w temperaturze 50 °C i ponownie ważono, określając masę suchą. Wszystkie pomiary były wykonane w 3 powtórzeniach.

### 2.2.2. Badania właściwości reologicznych

Do badań reologicznych wykorzystano reometr rotacyjny RS-6000 (ThermoFischer, Germany), stosując układ płytka-płytkę o średnicy 35 (mm) i szczelinie 1,2 (mm). Badania reologiczne otrzymanych żeli przeprowadzono po 1 tygodniu od ich przygotowania. Temperaturę podczas pomiarów utrzymywano na poziomie 20 °C za pomocą modułów Peltiera. Zakres liniowej lepkosprężystości określono wyznaczając zależność modułu zachowawczego  $G'$  (Pa) i modułu stratności  $G''$  (Pa), przy stałej częstotliwości 1 (Hz). Test przemiatania częstotliwości przeprowadzono w zakresie liniowej lepkosprężystości określonej wstępnie w testach przemiatania amplitudy w zakresie częstotliwości od 0,1 (Hz) do 50 (Hz). Wartości tangensa kąta przesunięcia fazowego  $\tan(\delta)$  obliczono jako stosunek  $G''/G'$ , co pozwoliło na określenie mocy żelu.

### 2.2.3. Analiza statystyczna

Różnice pomiędzy wartościami średnimi zostały zweryfikowane przy użyciu analizy wariancji ANOVA, przy przyjętym poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu pakietu LibreOffice Calc 6.4.3.2.

### 3. Wyniki i dyskusja

Sieciowanie jonowe alginianu zachodzi w sposób stopniowy i polega na wymianie kationów sodu na kationy wapnia. Zaobserwowano, iż stężenie czynnika sieciującego ma wpływ na właściwości fizyczne otrzymanych żeli. Zawartość wody w badanych hydrożelach zależała od stężenia PW i MW (tab. 1). Stężenie alginianu nie miało istotnego wpływu na badany parametr. Największą zawartością wody charakteryzowały się próbki sieciowane w roztworze o stężeniu 0,8% MW, natomiast najmniejszą sieciowane w 1,6% PW z dodatkiem miodu pszczelego. Żele otrzymane w 0,8% roztworze pantotenianu wapnia i mleczanu wapnia zawierały najwięcej wody, natomiast otrzymane w 1,6% roztworach tych czynników sieciujących zawierały najmniej wody. Jest to związane z powinowactwem bloków G do jonów wapnia. Dwa bloki G ustawione obok siebie w szeregu mogą powodować powstawanie pustych przestrzeni, które przyczyniają się do synerезy. Wyższe stężenie jonów dwuwartościowych powoduje powstawanie układów o gęstszym upakowaniu i większej utracie wody (Wrzeszcz i in. 2013). W pracy Wrzeszcz (2013) otrzymano podobne wnioski analizując zawartość wody w żelach alginianowych, sieciowanych chlorkiem wapnia.

**Tabela 1.** Zawartość wody (%) w badanych hydrożelach

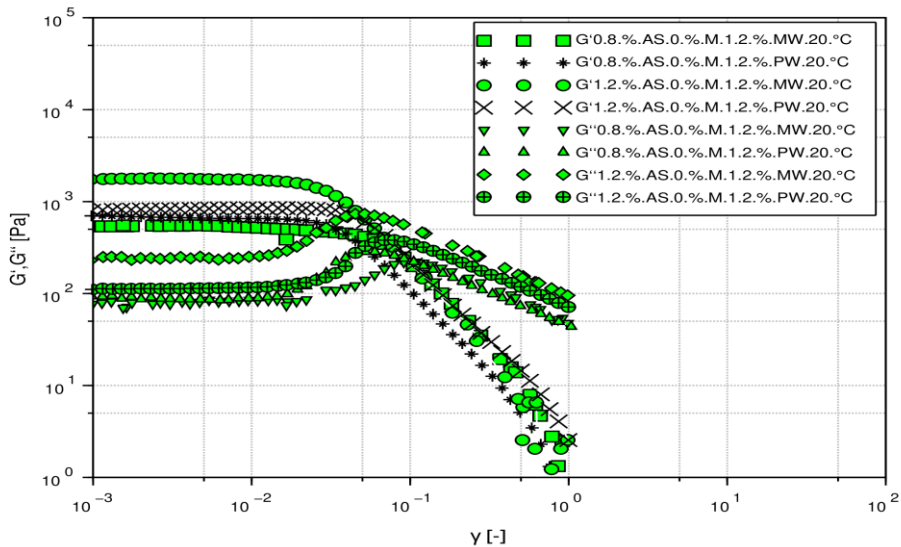
		Stężenie alginianu sodu (%)		
		0,8	1,2	1,6
Stężenie pantotenu wapnia (%)	0,8	97,2 ± 0,1	97,3 ± 0,8	97,3 ± 0,7
	1,2	97,1 ± 0,1	97,1 ± 0,6	96,8 ± 0,5
	1,6	96,6 ± 0,1	96,4 ± 0,6	96,3 ± 0,3
Stężenie mleczanu wapnia (%)	0,8	98,5 ± 0,6	98,2 ± 0,4	98,4 ± 0,6
	1,2	98,7 ± 0,3	98,3 ± 0,5	97,2 ± 0,4
	1,6	94,3 ± 0,7	94,4 ± 1,0	94,4 ± 0,1
		Stężenie alginianu sodu (%) z dodatkiem 5(%) miodu pszczelego		
		0,8	1,2	1,6
Stężenie pantotenu wapnia (%)	0,8	96,2 ± 0,3	96,5 ± 0,4	97,4 ± 0,2
	1,2	96,6 ± 0,6	96,3 ± 0,1	95,5 ± 0,3
	1,6	92,3 ± 0,1	92,2 ± 0,1	92,2 ± 0,3
Stężenie mleczanu wapnia (%)	0,8	97,1 ± 0,2	97,3 ± 0,5	97,4 ± 0,8
	1,2	96,3 ± 0,2	96,1 ± 0,3	96,3 ± 0,2
	1,6	91,5 ± 0,4	91,4 ± 0,2	91,5 ± 0,3

Objaśnienia: Różnice między średnimi w obrębie kolumn są nieistotne statystycznie dla  $\alpha = 0,05$ .

### 3.1. Wyniki badań reologicznych

Charakterystyka reologiczna jest przydatna do oceny konsystencji produktu, a także wpływu dodatków na sam produkt. Właściwości reologiczne hydrożeli pozwalają sklasyfikować je jako materiały lepkosprężyste, ponieważ wykazują one zarówno zachowania sprężyste, jak i lepkie oraz prezentują właściwości fizyczne między stanami ciekłymi i stałymi. Dzięki testowi przemieszczania częstotliwości można zaobserwować, jak zmienia się zależność między modułami lepkości i sprężystości w funkcji częstotliwości. Test jest wykonywany w ramach liniowego regionu lepkosprężystego, określonego przez wstępny test przemieszczania amplitudy przy stałej częstotliwości, aby uniknąć uszkodzenia próbki. W tym zakresie  $G'$ ,  $G''$  i  $\tan(\delta)$  nie zmieniają się wraz z zastosowanym odkształceniem (Ahmed 2022).

Na rysunku 4 przedstawiono przykładowe moduły zachowawcze  $G'$  i moduły stratności  $G''$  w funkcji odkształcenia dla badanych hydrożeli na bazie alginianu sodu. Przy niskich amplitudach odkształcenia  $G'$  jest prawie stałe, co sugeruje liniowy zakres lepkosprężysty, w którym nie dochodzi do trwałego uszkodzenia struktury próbki.

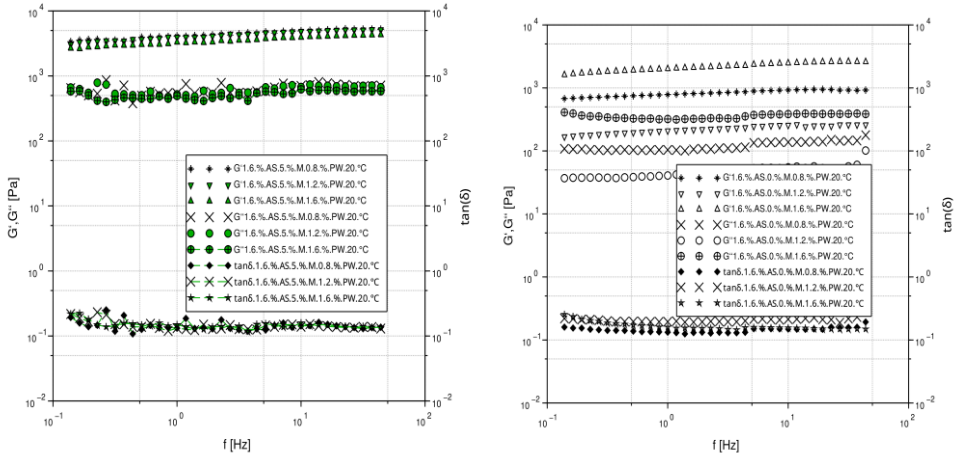


**Rysunek 4.** Przykładowe krzywe zależności wartości modułów  $G'$  i  $G''$  w funkcji amplitudy odkształcenia przy stałej częstotliwości oscylacji dla hydrożeli sieciowanych MW i PW bez dodatku miodu pszczelego, w 20 °C

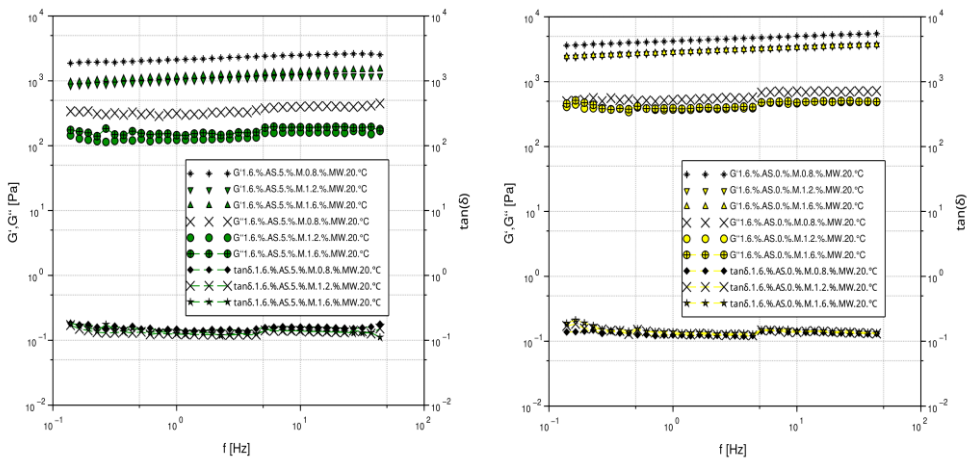
Przykładowe wyniki testu przemiatania częstotliwości uzyskane w temperaturze 20 °C przedstawiono na rysunkach 5, 6 i 7. Z ww. rysunków wynika, iż dla wszystkich próbek  $G'$  jest zawsze około 10 razy wyższe niż  $G''$  w pełnym zakresie częstotliwości. Wartość  $G'$  i  $G''$  układają się prawie równolegle bez punktu przecięcia, lekko wzrastając wraz ze wzrostem częstotliwości; wskazuje to na elastyczny charakter usieciowanych żeli dominujący nad charakterem lepkim w testowanych warunkach. Podobną zależność zaobserwowali analizujący żele alginianowe z nanodispersją Cuomo i in. (2019). To zachowanie badanych żeli jest zbliżone do cech silnych układów żelowych, co może wskazywać na powstawanie żelu z pogranicza silnego żelu. Podobne zachowanie można zaobserwować w pracy Draget i in. (2003), gdzie jako metodę otrzymywania żeli alginianowych wybrano bezpośrednie dodawanie wolno hydrolizującego D-glukono-6-laktonu (GDL) do roztworu alginianu sodu. Ponadto, odpowiedź modułu sprężystości jest nieznacznie zależna od częstotliwości, lekko wzrastając wraz ze wzrostem częstotliwości w zakresie od 0,1 do 50 (Hz). Natomiast wartości  $G''$  były prawie niezależne od częstotliwości w całym badanym zakresie.

Dodatek miodu pszczelego powodował wzrost modułów  $G'$  i  $G''$  hydrożeli sieciowanych PW we wszystkich analizowanych stężeniach. Najwyższe wartości modułu  $G'$  miał żel 1,6% AS i 0,8% PW z miodem pszczelim (~5100 Pa). Wzrost stężenia czynnika sieciującego PW i MW w badanych próbkach powoduje obniżenie wartości modułu zachowawczego. Dla wszystkich żeli 1,6% AS o stężeniach środka sieciującego (0,8%, 1,2% i 1,6% MW i PW) wpływ dodatku miodu jest wyraźny. Po dodaniu miodu pszczelego wartość modułu zachowawczego  $G'$  wzrosły dla żelu 1,6% AS i 0,8% PW z ok. 920 Pa na ok. 5100 Pa. W tabeli 2

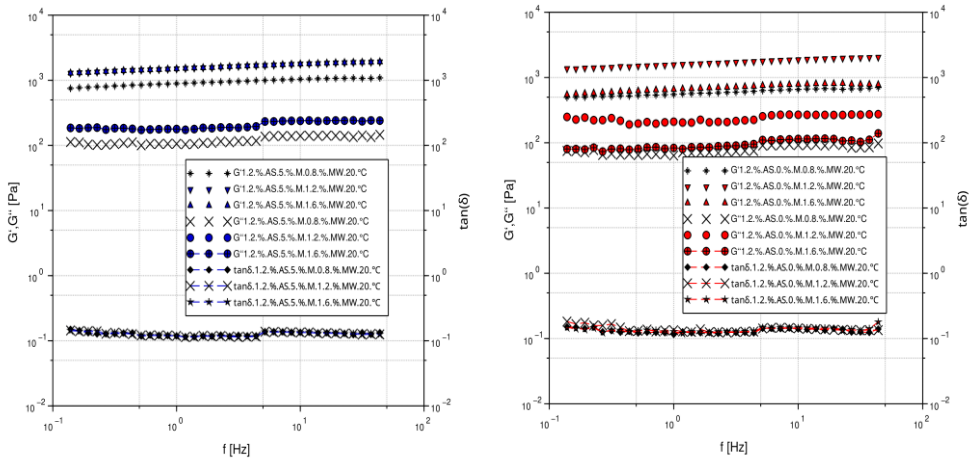
zamieszczono dodatkowe parametry ( $G'$ ,  $G''$  oraz tangens kąta przesunięcia fazowego  $\tan(\delta)$ ) badanych żeli przy częstotliwości 1 Hz i 10 Hz.



**Rysunek 5.** Zależność modułu  $G'$ ,  $G''$  oraz  $\tan(\delta)$  od częstotliwości dla żeli 1,6% AS sieciowanych PW z dodatkiem miodu pszczelego (z lewej) i bez dodatku miodu pszczelego (z prawej)



**Rysunek 6.** Zależność modułu  $G'$ ,  $G''$  oraz  $\tan(\delta)$  od częstotliwości dla żeli 1,6% AS sieciowanych MW z dodatkiem miodu pszczelego (z lewej) i bez dodatku miodu pszczelego (z prawej)



**Rysunek 7.** Zależność modułu  $G'$ ,  $G''$  oraz  $\tan(\delta)$  od częstotliwości dla żeli 1,2% AS sieciowanych MW z dodatkiem miodu pszczelego (z lewej) i bez dodatku miodu pszczelego (z prawej)

Stosunek energii utraconej do zmagazynowanej w każdym cyklu opisany jako  $\tan(\delta)$  informuje o fizycznym zachowaniu się analizowanego układu. Tangens kąta fazowego ( $\tan(\delta) = G''/G'$ ) pokazuje znaczenie modułu lepkości  $G''$  w cieczy i modułu sprężystości  $G'$  w postaci ciała stałego (Owczarz i in. 2017). Uzyskane wartości  $\tan(\delta)$  były zawsze mniejsze od jedności, co potwierdza stałe zachowanie się żeli przy wszystkich wartościach częstotliwości i wysoki stopień usieciowania. Ponadto badane układy przy niższych wartościach częstotliwości ( $\sim 0,1-0,5$  Hz) miały wartości  $\tan(\delta)$  pomiędzy 0,3 a 0,1, zaś przy wyższych częstotliwościach wartości  $\tan(\delta)$  wynosze około 0,1. W związku z powyższym można stwierdzić, iż przebadane żele są żelami o średniej mocy, a dodatek miodu pszczelego nie zmienił charakteru mocy żeli, można nawet sądzić, że utrzymuje go na stałym poziomie.

**Tabela 2.** Wybrane parametry reologiczne żeli

Parametry	Stężenie alginianu sodu (AS) lub miodu pszczelego (MP)								
	0,8%AS				1,2%AS				
	0%MP		5%MP		0%MP		5%MP		
	PW	MW	PW	MW	PW	MW	PW	MW	
	0,8%		0,8%		0,8%		0,8%		
1 (Hz)	$G'$ (Pa)	597 ± 7	392 ± 5	823 ± 7	934 ± 2	623 ± 8	578 ± 6	1385 ± 14	609 ± 6
	$G''$ (Pa)	64 ± 7	47 ± 8	102 ± 1	96 ± 2	76 ± 4	86 ± 3	171 ± 5	67 ± 3
	$\tan(\delta)$	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
10 (Hz)	$G'$ (Pa)	695 ± 19	466 ± 9	1024 ± 11	1082 ± 7	732 ± 13	700 ± 3	1652 ± 6	726 ± 3
	$G''$ (Pa)	87 ± 4	62 ± 8	122 ± 3	132 ± 3	101 ± 3	104 ± 5	244 ± 6	97 ± 2
	$\tan(\delta)$	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1

Objaśnienia: Różnice między średnimi w obrębie kolumn są nieistotne statystycznie dla  $\alpha = 0,05$ .

#### 4. Podsumowanie

Żele alginianowe stosuje się zarówno do podawania leków, kapsułkowania komórek, w kuchni molekularnej oraz w kosmetykach, które zwykle wytwarzane są przez wkraplanie roztworu alginianu do roztworu  $\text{CaCl}_2$ . Wadą tych układów jest to, że trudno jest kontrolować szybkość żelowania, uzyskana struktura nie jest jednolita, a wytrzymałe mechanicznie struktury o odpowiednich kształtach są trudne do osiągnięcia. Istotnym czynnikiem w kontrolowaniu jednorodności i wytrzymałości żelu przy użyciu kationów dwuwartościowych jest szybkość żelowania. W pracy otrzymano żele alginianowe o różnym stężeniu alginianu sodu (AS) i czynników sieciujących PW i MW, wykorzystując migrację jonów przez membranę i otrzymując jednolite struktury w kształcie walca. Przeprowadzone badania potwierdziły, że na właściwości reologiczne oraz strukturę hydrożeli alginianowych ma wpływ stężenie AS oraz rodzaj i stężenie PW i MW. Dodatek miodu pszczelego również wpływał na właściwości reologiczne w badanym zakresie stężeń. Wyniki badań właściwości reologicznych hydrożeli bez i z dodatkiem miodu pszczelego wskazują na możliwość zastosowania miodu jako dodatku do tego typu żeli, nie mniej jednak są to wstępne badania i zasadna jest ich kontynuacja.

*Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie*

#### Literatura

1. Ahmed J. Basu S. (2022). *Advances in Food Rheology and Its Applications*. Woodhead Publishing, USA.
2. Brownlee I. A., Seal Ch.J., Wilcox M., Dettmar P.W., Pearson J.P. (2009). *Applications of alginates in food*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
3. Cuomo F., Cofelice M., Lopez F. (2019). Rheological characterization of hydrogels from alginate-based nanodispersion. *Polymers*, 11, 259.
4. Donati I., Holtan S., Mørch Y.A., Borgogna M., Dentini M., Skjåk-Bræk G. (2005). New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels. *Biomacromolecules*, 6, 1031-1040.
5. Draget K.I., Stokke B.T., Yuguch Y., Urakawa H., Kajiwarra K. (2003). Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 3. Alginic acid gels. *Biomacromolecules*, 4, 1661-1668.
6. George M., Abraham T.E. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. *Journal of Controlled Release*, 114, 1-14.
7. Hashemnejad S.M, Kundu S. (2016). Strain stiffening and negative normal stress in alginate hydrogels. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 54, 1767-1775.
8. Hashemnejad S.M., Kundu S. (2019). Rheological properties and failure of alginate hydrogels with ionic and covalent crosslinks. *Soft Matter*, 15, 7852-7862.



9. Hay I.D., Rehman Z.U., Ghafoor A., Rehm B.H.A. (2010). Bacterial biosynthesis of alginates. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, 85, 752-759.
10. Lee K.Y., Mooney D.J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37, 106-126.
11. Kaklamania G., Chenelerd D., Grovera L.M., Adamsa M.J., Bowena J. (2014). Mechanical properties of alginate hydrogels manufactured using external gelation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 36, 135-142.
12. Krystyjan M. (2015). Badania teksturalne, reologiczne i termiczne żeli spożywcze struktura i właściwości. *Przemysł Spożywczy*, 1(2), 15-19.
13. Kuo C. K., Ma P.X. (2001). Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: part 1. structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*, 22, 511-521.
14. Kupikowska-Stobba B., Lewińska D. (2020). Polymer microcapsules and microbeads as cell carriers for in vivo biomedical applications. *Biomaterials Science*, 8, 1536-1574.
15. Malektaj H., Drozdov A.D., de Claville Christiansen J. (2023). Swelling of homogeneous alginate gels with multi-stimuli sensitivity. *International Journal Molecular Sciences*, 24, 5064.
16. Mitura S., Sionkowska A., Jaiswa A. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 31(6), 50.
17. Owczarz P., Rył A., Modrzejewska Z., Dziubiński M. (2017). The influence of the addition of collagen on the rheological properties of chitosan chloride solutions. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 22, 176-189.
18. Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 27-46.
19. Pilarska A. (2016). Hydrokoloidy-substancje stabilizujące żywność Cz. I. Funkcje, modyfikacje i uwarunkowania prawne. *Przemysł Spożywczy*, 1 (3), 38-41.
20. Renard D., van de Velde F., Visschers R. (2006). The gap between food gel structure, texture and perception. *Food Hydrocolloids*, 20(4), 423-31.
21. Smuga-Kogut M., Pabiszczak A., Dymkowska-Malesa M., Szymanowska D., Kobus-Cisowska J., Cielecka-Piontek J. (2020). Preparation of beebread caviar from buckwheat honey through immobilization with sodium alginate. *Molecules*, 25, 4483.
22. Tonnesen H. H., Karlsen J. (2002). Alginate in drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28, 621-630.
23. Wrzeszcz K., Marycz K., Zimoch A., Jarmoluk A. (2013). Sיעiowanie alginianu sodu do hydrożeli dla inżynierii tkankowej. *Przemysł Chemiczny*, 92(6), 1018-1022.
24. Zhao X.H., Huebsch N., Mooney D.J., Suo Z.G. (2010). Stress-relaxation behavior in gels with ionic and covalent crosslinks. *Journal of Applied Physics*, 107, 1-5.

## **Preparation and examination of selected rheological properties of alginate hydrogels with the addition of the bee honey**

### **Abstract**

The natural raw materials have a big influence on the health, including keeping good condition of the skin. They are often used in cosmetic, pharmaceutical and food formulations. That is why sodium alginate, which is a natural component showing a number of favorable health properties, is very widely used in many industries. Sodium alginate is non-toxic, non-carcinogenic, does not cause an allergic reaction and is compatible with biological systems. The natural bee products are well known for the centuries as raw natural products used in the disease's treatment, and as a food ingredients and cosmetic raw materials. The influence of the bee products on the skin has also been confirmed by numerous studies, and the use of the bee honey in wound healing emphasizes its healing values. Hydrogels based on sodium alginate are characterized by good mechanical properties and a packed structure. This means that it is possible to use them in the production of dressings, in cosmetics and the food industry. In the work selected rheological properties of sodium alginate hydrogels without and with the addition of bee honey, depending on the concentration of sodium alginate solution and concentrations of network factors was examined. The calcium pantotenate and calcium lactate to cross sodium alginate solution were used. Rheological tests were carried out using the RS-6000 rotational rheometer (ThermoFischer, Karlsruhe, Germany), plate-plate system with 35 (mm) diameter and gap of 1,2 (mm). For all analyzed gels, the  $G'$  module was higher than the  $G''$  module in all tested frequency ranges. The bee honey addition affects to the rheological properties in the tested concentration range, and it causes an increase in the  $G'$  and  $G''$  modules of PW cross-linked hydrogels in all analyzed concentrations.

## **Wrażliwość smakowa osób młodych w powiązaniu z częstością spożycia i preferowaniem produktów słodkich i słonych**

Anna Jędrusek-Golińska\*, Krystyna Szymandera-Buszka, Marzanna Hęś

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu,  
Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej*

*\*Autor korespondencyjny: [anna.jedrusek-golinska@up.poznan.pl](mailto:anna.jedrusek-golinska@up.poznan.pl)*

### **Streszczenie**

Zmysł smaku jest jednym z ważnych zmysłów człowieka. Odbiór bodźców smakowych wpływa na nawyki żywieniowe, a przez to w dużym stopniu na ogólny stan zdrowia. Celem pracy była ocena wrażliwości smakowej, mierzonej wielkością progów rozpoznania smaków podstawowych wśród ludzi młodych z terenu Wielkopolski, w powiązaniu z częstością spożycia i preferowaniem wybranych produktów spożywczych.

W badaniu wzięło udział 106 zdrowych osób, w wieku od 18 do 39 r.ż. o prawidłowej masie ciała. Badano progi rozpoznania czterech smaków podstawowych (słodki, słony, kwaśny i gorzki) metodą limitów, a także częstość spożycia produktów słodkich i słonych oraz preferencje z wykorzystaniem kwestionariusza ankiety. Wartości progów rozpoznania smaku słodkiego (sacharoza), słonego (chlorek sodu), kwaśnego (kwas cytrynowy) oraz gorzkiego (kofeina) nie różniły się istotnie wśród badanych kobiet i mężczyzn. Wieloczynnikowy hierarchiczny model regresji dla smaku słodkiego, słonego i kwaśnego wyjaśnił 3-9% zmienności progów rozpoznania, wskazując jako istotne predyktory częstość spożycia słodkiego nabiału dla smaku słodkiego oraz lubienie smaku kwaśnego. Nie wykazano wpływu wieku i płci na wrażliwość smakową. Preferencje i częstość spożycia nie wyjaśniały w pełni zmienności progów rozpoznania. Należy przypuszczać, że istnieją inne, nie uwzględnione w pracy czynniki, które odgrywają ważną rolę w percepcji badanych rodzajów smaku (zmienność międzyosobnicza).

**Słowa kluczowe:** wrażliwość smakowa, częstość spożycia, preferencje

### **1. Wprowadzenie**

Zmysł smaku jest jednym z ważnych zmysłów człowieka. Odbiór bodźców smakowych wpływa na nawyki żywieniowe, a przez to w dużym stopniu na ogólny stan zdrowia. Sygnały z komórek receptorowych, zlokalizowanych w jamie ustnej, po ich interakcji z cząsteczkami smaku są przekazywane do mózgu (Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009). Obserwuje się znaczne różnice w percepcji smaku w populacji ludzkiej, zwłaszcza w postrzeganiu smaku gorzkiego i umami. Międzyosobnicze różnice w odbiorze smaku mogą wynikać z różnic fizjologicznych w układzie smakowym, w poznawczym przetwarzaniu sygnałów smakowych w mózgu, w genetyce, a także z różnego oddziaływania środowiska (Puputti i in. 2018, Puputti i in. 2019).

Rozróżnia się czynniki zewnętrzne i wewnętrzne wpływające na zmysł smaku. Do zewnętrznych należą płeć, wiek, genetyka i pochodzenie etniczne (Martin i Sollars 2017, Puputti i in. 2019, Williams i in. 2016). Zewnętrzne z kolei obejmują czynniki związane ze zdrowiem i zachowaniami zdrowotnymi, takimi jak palenie tytoniu, masa ciała, choroby i przyjmowane leki (Doets i Kremer 2015, Hardikar i in. 2017, Puputti i in. 2019). Istnieją również badania, które nie potwierdzają powiązań tych czynników z funkcją smaku (Fischer i in. 2013, Methven i in. 2012).

Opisywane są też powiązania między wrażliwością smakową i wrażeniami chemestetycznymi a percepcją emocji, które mogą wynikać z ich wspólnych obszarów przetwarzania neuronowego lub ich wzajemnego powiązania z interocepcją (Yang i in. 2022). W niektórych pracach uwzględniono także preferencje smakowe i częstość spożywania produktów o intensywnym smaku (Ahrens 2015, Chamoun i in. 2019, Petty i in. 2020). Ich wyniki nie wskazują jednak jednoznacznie na czynniki, które oddziałują silnie z wrażliwością smakową.

W badaniach na dzieciach w wieku 6-9 lat z wykorzystaniem słodzonego soku jabłkowego wykazano, że wrażliwość na smak słodki koreluje ze wzrostem upodobania do słodkiej żywności (Lanfer i in. 2012). Stwierdzono także, że wrażliwość dzieci w wieku 4–6 lat na smak słodki jest dodatnio skorelowana z ich preferencją do napojów słodzonych (Venerød i in. 2017). Natomiast Ervina i in. (2020) nie wykazali istotnego wpływu wrażliwości smakowej w zakresie czterech smaków podstawowych na upodobania dzieci do wybranych produktów spożywczych.

W badaniach Chamoun i in. (2019) z udziałem osób dorosłych stwierdzono powiązanie większej wrażliwości na smak słony z obniżeniem preferencji dla tego smaku, natomiast nie obserwowano takiej zależności w przypadku smaku słodkiego i kwaśnego. Lim i in. (2022) nie zaobserwowali korelacji między progami wrażliwości smakowej i preferencjami oraz wiekiem badanych.

Próba wyjaśniania międzyosobniczych różnic w postrzeganiu smaku jest jednak ważna i powinna być dalej badana, może bowiem posłużyć do konstruowania osobistych wskaźników żywieniowych i zapobiegać chorobom związanym ze nadmiernym spożywaniem żywności, takim jak otyłość czy choroby układu krążenia. Zdobycie głębszej wiedzy na temat zmienności doświadczeń zmysłowych może pomóc w interpretacji indywidualnych doświadczeń.

Celem pracy była ocena wrażliwości smakowej, mierzonej wielkością progów rozpoznania smaków podstawowych, wśród ludzi młodych z terenu Wielkopolski, w powiązaniu z częstością spożycia i preferowaniem wybranych produktów spożywczych.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Materiał badany**

W badaniu wzięło udział 106 osób, w tym 57 kobiet (54,2%). Rekrutowano osoby mieszkające na terenie Wielkopolski. Kryterium włączenia do badań była prawidłowa

masa ciała (BMI w zakresie 18,00-24,99 kg/m<sup>2</sup>), wiek od 18 do 39 r.ż. oraz kwalifikacja lekarska (wyłączenie osób w trakcie lub krótko po przebytej infekcji górnych dróg oddechowych, stosujących dietę, która wyklucza pewne grupy produktów spożywczych, kobiet ciężarnych i karmiących piersią) oraz kompletne wypełnienie kwestionariusza ankiety. Wszyscy uczestnicy wyrazili świadomą zgodę na przeprowadzenie badania. Charakterystykę badanych zamieszczono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Charakterystyka badanych

	<b>Wszyscy badani</b>	<b>Kobiety</b>	<b>Mężczyźni</b>	<b>Wartość p</b>
Liczebność (% (n))	100% (106)	54,2% (57)	45,8% (49)	
Wiek (lata) ± SD	28,0 ± 4,51	27,4 ± 3,97	28,7 ± 4,94	> 0,05
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) ± SD	21,90 ± 2,20	21,9 ± 2,40	21,9 ± 1,92	> 0,05

## 2.2. Metody badań

Wrażliwość sensoryczną, tj. zdolność odczuwania, identyfikowania i/lub rozróżniania jakościowego i/lub ilościowego jednego lub wielu bodźców za pomocą zmysłów (Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009), badano w pracowni sensorycznej, spełniającej wymogi normy PN-EN ISO 8589:2010/A1:2014-07 (m.in. indywidualne stanowiska ocen, kontrolowana temperatura i wilgotność pomieszczenia). Zgodnie z procedurą opisaną w PN-ISO 3972:2016-07, określano progi rozpoznania przez badanych czterech smaków podstawowych (słodki, słony, kwaśny i gorzki), definiowane jako najmniejsze natężenie bodźca, które umożliwia jego rozpoznanie.

Roztwory podstawowe substancji wzorcowych (tab. 2) sporządzano w przededniu planowanego badania, z użyciem wody destylowanej. W badaniach wstępnych zaobserwowano, że przy wyższych stężeniach stymulantów badani nie wskazywali żadnego stężenia jako progu wyczuwalności, od razu rozpoznając jakość smaku. W związku z tym do przewidzianego normą szeregu rozcieńczeń, w każdej serii dodano jeszcze dwa dodatkowe rozcieńczenia.

Do określenia progów rozpoznania zastosowano metodę limitów. Po wstępnym instruktażu przeprowadzania oceny, uczestnikom prezentowano roztwory o rosnących stężeniach w szklanych pojemnikach oznakowanych kodem trzycyfrowym. Badani wpisywali wyniki do specjalnie przygotowanych formularzy. Najpierw oceniający rozpoznawali smak kwaśny i gorzki, a po 45-minutowej przerwie – słodki i słony. W przerwie wypełniali kwestionariusze ankiety dotyczące ich preferencji smakowych oraz częstości spożycia wybranych grup produktów słodkich i słonych.

**Tabela 2.** Substancje wzorcowe i seria geometryczna stężeń roztworów użytych do określenia progów rozpoznania

Substancje wzorcowe	Stężenia (g/l)		Wartość ilorazu serii geometrycznej R	Dodatkowe stężenia (g/l)
	najniższe	najwyższe		
Sacharoza	0,34	20,0	0,6	9,8; 18,0
Chlorek sodu	0,16	2,57	0,7	1,5; 1,8
Kwas cytrynowy	0,13	0,75	0,8	0,54; 0,9
Kofeina	0,06	0,66	0,8	0,34; 0,53

Autorski kwestionariusz ankiety do badania częstotliwości spożycia produktów słodkich i słonych oraz preferencji smakowych opracowano na podstawie danych literaturowych (Jayasinghe i in. 2017, Jeżewska-Zychowicz i in. 2014) oraz wcześniejszych badań własnych. Częstotliwość spożycia wyrażono jako krotność/dzień, przyjmując: nigdy – 0; 1-3 razy w miesiącu – 0,06; raz w tygodniu – 0,16; kilka razy w tygodniu – 0,5; raz dziennie – 1 oraz kilka razy w ciągu dnia – 2. Wybrano siedem rodzajów asortymentów produktów słodkich (słodkie owoce; słodyczne; słodki nabiał; wyroby cukiernicze; dżemy i miody; desery; słodkie napoje) i sześć słonych (produkty mięsne; nabiał; słone przekąski; dania gotowe; słone warzywa; pieczywo). Poszczególne asortymenty produktów słodkich oraz słonych były reprezentowane przez różną liczbę produktów spożywczych. Wyniki dla danego asortymentu przedstawiono jako średnią uzyskanych wyników. Ze względu na węższy asortyment produktów o jednoznacznie kwaśnym lub gorzkim smaku w kwestionariuszu nie uwzględniono częstości ich spożywania.

Na pytania „Czy lubisz...?”, dotyczące preferencji produktów słodkich, słonych, kwaśnych i gorzkich, udzielano odpowiedzi „tak/nie”.

Do oceny istotności i mocy relacji między zmiennymi zależnymi i niezależnymi zastosowano współczynniki korelacji rang Spearmana ( $r_s$ ) i test U Manna-Whitneya (Z). Aby zweryfikować badane hipotezy, wykonano trzy (dla smaku słodkiego, słonego i kwaśnego) odrębne hierarchiczne regresje wieloczynnikowe. Zmiennymi zależnymi były progi rozpoznania. Modele zawierały tylko te zmienne niezależne, które w analizie jednoczynnikowej były istotnie skorelowane z wartościami progów rozpoznania. Próg istotności statystycznej do włączenia zmiennych niezależnych do wieloczynnikowych hierarchicznych modeli regresji przyjęto na poziomie  $p \leq 0,05$ .

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Progi rozpoznania podstawowych smaków (słodkiego, słonego, kwaśnego i gorzkiego)

Wartości progów rozpoznania przedstawiono w tabeli 3. Średnia wartość progu rozpoznania sacharozy wynosiła 7,8 g/l; nie wykazano istotnych statystycznie różnic w progu rozpoznania smaku słodkiego między badanymi kobietami i mężczyznami. Uzyskane wartości nie odbiegają rzędem wielkości od danych innych autorów. Nakamura i in. (2008),

badając ludzi w wieku 21-30 lat o prawidłowej masie ciała, wykazali okołodobowe zmiany progów rozpoznania substancji o słodkim smaku, równoległe ze zmianami poziomu lep-tyny; zakres oznaczonych przez nich średnich progów rozpoznania sacharozy wynosił 7,8 – 13,1 g/l. Low i in. (2016) oznaczyli średni próg rozpoznania sacharozy u ludzi młodych na poziomie 4,0 g/l, wykazując przy tym zakres zmienności od 0,3 do 19,5 g/l, a Petty i in. (2020) – na poziomie 6,8 mM (2,33 g/l). Pasquet i in. (2006) przeprowadzili badania z udziałem studentów na czczo i po posiłku. Nie stwierdzili istotnych różnic między ich pro-gami rozpoznania sacharozy, które wynosiły odpowiednio 40,1 mM i 41,1 mM (odpowied-nio 13,7 g/l i 14,2 g/l). Thakare i in. (2019) badali wpływ grupy krwi na progi rozpoznania smaków podstawowych u osób w wieku 19 – 25 lat; dla sacharozy – w zależności od grupy krwi – mieściły się one w zakresie od 7,49 g/l do 11,59 g/l.

**Tabela 3.** Średnie progi rozpoznania podstawowych smaków przez kobiety i mężczyzn (g/l)

Zmienna (średnia ± SD)	Wszyscy (g/l)	K (n = 57) (g/l)	M (n = 49) (g/l)	Wartość p
Próg rozpoznania słodki	7,81 ± 0,569	7,83 ± 0,532	7,79 ± 0,618	> 0,05
Próg rozpoznania słony	0,81 ± 0,060	0,72 ± 0,055	0,90 ± 0,063	> 0,05
Próg rozpoznania kwaśny	0,03 ± 0,020	0,03 ± 0,019	0,03 ± 0,021	> 0,05
Próg rozpoznania gorzki	0,03 ± 0,018	0,03 ± 0,019	0,03 ± 0,017	> 0,05

Średnia wartość rozpoznania chlorku sodu przez osoby badane wynosiła 0,81 g/l. Wy-niki uzyskane dla kobiet i mężczyzn nie różniły się w sposób istotny statystycznie i kore-spondowały m.in. z wartościami opublikowanymi przez Pasquet i in. (2006), zgodnie z któ-rymi studenci na czczo i po posiłku cechowali się średnim progiem rozpoznania smaku słonego na poziomie 22,2 mM i 19,3 mM, co odpowiada 1,29 g/l i 1,13 g/l. Nakamura i in. (2008) stwierdzili, że próg rozpoznania chlorku sodu wśród młodych osób wynosił 1,45 g/l, natomiast Thakura i in. (2019), że oscylował w granicach od 0,92 g/l do 2,16 g/l. Z kolei Sanematsu i in. (2018) u ludzi z nadwagą i otyłych szacowali jego wielkość na poziomie 1,72 g/l. Borjes i in. (2015) oznaczyli progi rozpoznania smaku słonego u ludzi po trans-plantacji nerki, spożywających sól w ilości 10,7 g/d, stanowiące średnio 0,91 g/l.

Średnie wartości progu rozpoznania smaku kwaśnego wynosiły 0,3 g/l, zarówno u ko-biet, jak i u mężczyzn. Są to wyniki bardzo zbliżone do uzyskanych przez Jędrusek-Golińska (2019) (0,32 g/l) i nieco niższe niż zamieszczone w pracy Thakare i in. (2019) – w zależności od grupy krwi, badani wykazywali próg rozpoznania smaku kwaśnego na poziomie 0,53-0,84 g/l.

Średnia wartość progu rozpoznania kofeiny wynosiła 0,3 g/l. Nie wykazano różnic we wrażliwości smakowej dotyczącej smaku gorzkiego wśród badanych mężczyzn i kobiet. Są to dane zbliżone do uzyskanych w poprzednich badaniach (Jędrusek-Golińska, 2019), w których osoby w wieku 19–39 lat rozpoznawały kofeinę o stężeniu 0,26 g/l. Ervina i in. (2020) natomiast oznaczyli progi wrażliwości na ten składnik u dzieci na poziomie 0,12 g/l.

### 3.2. Częstotliwość spożywania przez badanych wybranych grup produktów słodkich i słonych

Kolejnym etapem była ocena częstotliwości spożywania wybranych grup produktów słodkich i słonych. Uczestnicy badania zaznaczali w kwestionariuszu ankiety częstotliwość spożywania dwudziestu produktów spożywczych o profilu smakowym słodkim i słonym. Podobnie jak w badaniu Jayasinghe i in. (2017), produkty te przydzielono do kilku grup asortymentowych. Średnią częstotliwość ich spożywania przedstawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Średnie częstości spożywania wybranych produktów słodkich i słonych przez badanych  
**Częstotliwość spożycia wybranych kategorii produktów słodkich**

	Wszyscy (K+M)	K (n=57)	M (n=49)	Wartość p
Słodkie owoce	0,43 ± 0,580	0,51 ± 0,546	0,34 ± 0,374	> 0,05
Słodycze	0,91 ± 0,863	0,85 ± 0,874	0,97 ± 0,855	> 0,05
Słodki nabiał	0,66 ± 0,457	0,66 ± 0,389	0,65 ± 0,528	> 0,05
Wyroby cukiernicze	0,15 ± 0,187	0,17 ± 0,219	0,12 ± 0,138	> 0,05
Dżemy, miody	0,18 ± 0,284	0,21 ± 0,325	0,15 ± 0,226	> 0,05
Desery	0,09 ± 0,142	0,09 ± 0,152	0,08 ± 0,132	> 0,05
Słodkie napoje	1,10 ± 0,647	1,02 ± 0,685	1,19 ± 0,593	> 0,05

**Częstotliwość spożycia wybranych kategorii produktów słonych**

	Wszyscy (K+M)	K (n=57)	M (n=49)	Wartość p
Produkty mięsne	1,06 ± 0,694	0,84 ± 0,592	1,32 ± 0,72	0,001
Nabiał	0,53 ± 0,242	0,54 ± 0,226	0,52 ± 0,261	> 0,05
Słone przekąski	0,08 ± 0,093	0,06 ± 0,092	0,09 ± 0,089	0,025
Dania gotowe	0,14 ± 0,137	0,13 ± 0,104	0,16 ± 0,168	> 0,05
Słone warzywa	0,29 ± 0,321	0,32 ± 0,332	0,26 ± 0,309	> 0,05
Pieczywo	1,72 ± 0,546	1,59 ± 0,64	1,87 ± 0,365	0,009

Spośród produktów słodkich najczęściej spożywane były słodkie napoje (słodzone: kawa, herbata oraz napoje typu cola i soki). Osoby badane piły je częściej niż raz dziennie (1,1). Często spożywane były także słodycze (0,91 – prawie raz dziennie) i słodki nabiał (0,66 – częściej niż kilka razy w tygodniu), do którego zaliczono m.in. owocowe jogurty, kefiry i maślanki, mleka smakowe, słodkie serki typu Danio oraz batoniki mleczne. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości spożycia produktów słodkich przez kobiety i mężczyzn.

Zasadę kategoryzowania zastosowano także do oceny częstości spożycia produktów słonych. Największą częstość spożycia wykazano dla pieczywa (1,72); istotnie częściej spożywali je mężczyźni (1,87 vs. 1.59; p = 0,009). Do tej kategorii zaliczono pieczywo zwykłe pszenne, w tym bagietki, a także pieczywo mieszane i razowe, które zwykle zawiera



najwięcej soli (Dybkowska i in. 2015); pominięto natomiast pieczywo półcukiernicze. Istotne różnice w częstości spożycia stwierdzono także dla produktów mięsnych ( $p = 0,001$ ). Podobnie jak poprzednio, istotnie częściej spożywali je mężczyźni (1,32 vs. 0,84). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic między kobietami i mężczyznami w częstości spożycia pozostałych produktów słonnych. Na uwagę zasługuje jednak fakt częstego (0,53 - kilka razy w tygodniu) spożywania przez osoby badane nabiału, wśród których wymieniano w kwestionariuszu sery żółte, topione i pleśniowe.

### **3.3. Preferencje konsumenckie wobec produktów o smaku słodkim, słonym, kwaśnym i gorzkim**

W następnym etapie pracy badano preferencje dotyczące produktów słodkich, słonych, kwaśnych i gorzkich, a następnie analizowano ich potencjalny związek z wrażliwością smakową kobiet i mężczyzn. Preferencje pokarmowe określa się jako względnie trwałe postawy wobec potraw i produktów, a wyraża na podstawie ogólnego wyobrażenia o ich cechach jako stopień lubienia (Gawęcki i Baryłko-Pikielna 2015). Wg Baryłko-Pikielnej i Matuszewskiej (2009), preferencje pokarmowe nie przesądzają o tym, że dana potrawa lub produkt będą zawsze chętnie spożywane, ale w warunkach alternatywnego wyboru będzie to bardzo prawdopodobne. Preferencje pokarmowe mogą mieć związek z wrażliwością sensoryczną. W badaniach wykazano, że wysokim progom rozpoznania smaku słodkiego i słonego może towarzyszyć większe upodobanie do potraw i produktów o danym smaku, jak również, że im wyższa sprawność zmysłów smaku i powonienia, tym mniej badani lubią pokarmy słone (Kim i Lee 2009, Łoboda i Gawęcki 2011). Związek ten może wynikać z poszukiwania przez osoby mniej wrażliwe bardziej intensywnych źródeł danego bodźca, a także z faktu, że częste generowanie intensywnych bodźców jednego rodzaju stępią wrażliwość zmysłu smaku na te bodźce (Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009, Kim i Lee 2009, Łoboda i Gawęcki 2011). Wykazano, że wyższym preferencjom w kierunku smaku słonego i częstszemu spożywaniu produktów słonych towarzyszy niższa wrażliwość na smak słony, mierzona m.in. progami rozpoznania (Cho i in. 2016). Wskazano również na związek między reakcją na smak soli a nadmierną jej konsumpcją lub otyłością (Cox i in. 2016) oraz że stężenie soli w zakresie 0,04-2% miało większy wpływ na przyjemność odczuwaną podczas jedzenia niż stężenie tłuszczu (Dieuwerke i in. 2016).

Wyniki badania preferencji wobec podstawowych smaków i wybranych produktów spożywczych zebrano w tabeli 5.

Nie wykazano istotnych różnic w preferencji smaku słodkiego oraz słodkich produktów między kobietami i mężczyznami. Smak słodki lubiło ponad 93% wszystkich badanych. W literaturze opisywane jest zjawisko zmniejszania się preferencji wobec smaku słodkiego wraz z wiekiem. Wykazano, że dzieci lubią bardziej intensywne słodkie roztwory niż dorośli, przy czym młodsze dzieci preferują wyższe stężenia sacharozy niż osoby nastoletnie, a nastolatki słodsze roztwory niż osoby dorosłe (Drewnowski i in. 2012, Petty i in. 2020, Schwartz i in. 2009). Ta tendencja utrzymuje się także w późniejszych okresach życia. W badaniach Deglaire i in. (2015) stwierdzono zmniejszanie się preferencji wobec smaku

słodkiego wraz z wiekiem osób dorosłych. W badaniach Petty i in. (2020) wykazano, że związanych z wiekiem zmian w preferencjach smakowych sacharozy, które zachodzą w okresie dojrzewania, nie można wytłumaczyć zmianami we wrażliwości smakowej oraz że te dwa wymiary smaku słodkiego przechodzą różne trajektorie rozwojowe od dzieciństwa do dorosłości.

Lubienie smaku słonego zadeklarował niższy odsetek badanych (78,3%) niż w przypadku smaku słodkiego. Badane preferencje w kierunku produktów słonych nie różnicowały znamienne kobiet i mężczyzn. Jedynie w przypadku preferencji wobec dań gotowych obserwowano tendencję zmierzającą do istotności ( $p = 0,065$ ). Deglaire i in. (2015) stwierdzili, że upodobanie do smaku słonego rośnie u mężczyzn wraz z wiekiem; u kobiet nie obserwowali takiej zależności. Hoffman i in. (2016) wskazali, że osoby w średnim wieku preferują niższe stężenia chlorku sodu, w porównaniu z małymi dziećmi, nastolatkami i osobami starszymi.

Preferencje dotyczące smaku kwaśnego nie zależały od płci. Podobnie jak w poprzednich przypadkach, preferencje w zakresie wybranych produktów kwaśnych także nie różniły się znamienne między grupami. Dane literaturowe wskazują, że zazwyczaj preferencja wobec smaku kwaśnego jest mniejsza niż wobec słodkiego i słonego, co obserwowano także w prezentowanym badaniu. Opisywano, że małe dzieci preferują wyższy stopień kwasowości w porównaniu z dorosłymi i że upodobanie to może wzrosnąć wraz z wiekiem (Hoffman i in. 2016). Chociaż istnieją też starsze doniesienia wskazujące, że dorośli oceniają smak kwaśny jako mniej przyjemny, kojarząc go z produktami przeterminowanymi i zepsutymi (Murphy i Withee 1986).

Smak gorzki preferowany był przez najmniejszą liczbę badanych (33,9%). Wyniki nie różniły się istotnie w grupie kobiet i mężczyzn. Podobnie preferencje wobec produktów o gorzkim smaku nie były zróżnicowane. Badania dotyczące preferencji wobec smaku gorzkiego wśród dorosłych w wieku 18–70 lat przeprowadzili Drewnowski i in. (2012). Wykazały one niechęć do produktów o gorzkim smaku, która różniła się w zależności od płci (młode kobiety gorzej tolerowały gorycz) i malała wraz z wiekiem.

**Tabela 5.** Preferencje dotyczące smaków podstawowych oraz kategorii produktów słodkich, stonych, kwaśnych i gorzkich (% (n))

	Kategorie cech	Wszyscy (K+M)	K (n = 57)	M (n = 49)	Wartość p
<b>Lubienie smaku słodkiego</b>		93,4 (99)	96,5 (55)	89,8 (44)	> 0,05
Lubienie słodkich...	pieczywa cukierniczego	94,3 (100)	92,9 (53)	95,9 (47)	> 0,05
	owoców	82,1 (87)	82,5 (47)	81,6 (40)	> 0,05
	słodczy	10,4 (11)	10,5 (6)	10,2 (5)	> 0,05
	słodkich napojów	60,4 (64)	57,9 (33)	63,3 (31)	> 0,05
	napojów mlecznych	55,7 (59)	56,1 (32)	55,1 (27)	> 0,05
	Pieczywa półcukierniczego	18,9 (20)	21,1 (12)	16,3 (8)	> 0,05
	deserów mlecznych	21,7 (23)	24,6 (14)	18,4 (9)	> 0,05
	owsianek, kaszek	8,5 (9)	5,3 (3)	12,2 (6)	> 0,05
<b>Lubienie smaku słonego</b>		78,3 (83)	73,7 (42)	86,7 (41)	> 0,05
Lubienie słonego...	kaszk, makaronów	70,8 (75)	68,4 (39)	73,5 (36)	> 0,05
	mięś i produktów mięsnych	68,9 (73)	71,9 (41)	65,3 (32)	> 0,05
	zup/dań gotowych	64,2 (68)	56,1 (32)	73,5 (36)	> 0,05
	ryb	54,7 (58)	56,1 (32)	53,1 (26)	> 0,05
	jaj	46,2 (49)	38,6 (22)	55,1 (27)	> 0,05
	warzyw gotowanych	36,8 (39)	38,6 (22)	34,7 (17)	> 0,05
	warzyw surowych	10,4 (11)	10,6 (6)	10,2 (5)	> 0,05
	serów	23,6 (25)	21,1 (12)	26,5 (13)	> 0,05
<b>Lubienie smaku kwaśnego</b>		58,5 (62)	57,9 (33)	59,2 (29)	> 0,05
Lubienie kwaśnych...	marynat	54,7 (58)	54,4 (31)	55,1 (27)	> 0,05
	owoców	53,8 (57)	52,6 (30)	55,1 (27)	> 0,05
	soków	37,7 (40)	35,1 (20)	40,8 (20)	> 0,05
	napojów winnych	14,2 (15)	8,8 (5)	20,4 (10)	> 0,05
	słodczy	11,3 (12)	10,5 (6)	12,2 (6)	> 0,05
	ciast	7,5 (8)	7,0 (4)	8,2 (4)	> 0,05
	napojów mlecznych	5,7 (6)	3,5 (2)	8,2 (4)	> 0,05
	deserów mlecznych	3,8 (4)	3,5 (2)	4,1 (2)	> 0,05
<b>Lubienie smaku gorzkiego</b>		33,9 (36)	33,3 (19)	34,7 (17)	> 0,05
Lubienie gorzkich...	napojów typu tonic	55,7 (59)	59,6 (34)	51,0 (25)	> 0,05
	kawy, herbaty	68,9 (73)	28,1 (16)	34,7 (17)	> 0,05
	słodczy	36,8 (39)	36,8 (21)	36,7 (18)	> 0,05
	produktów mlecznych	5,7 (6)	3,5 (2)	8,2 (4)	> 0,05
	owoców	44,3 (47)	43,9 (25)	44,9 (22)	> 0,05
	warzyw	25,4 (27)	28,1 (16)	22,4 (11)	> 0,05

### **3.4. Związki między progami rozpoznania podstawowych smaków a częstością spożycia produktów słodkich i słonych oraz preferencjami**

Między wartościami progów rozpoznania smaków podstawowych a płcią badanych osób, częstością spożycia przez nich wybranych grup produktów słodkich i słonych oraz preferencjami wobec smaków podstawowych i produktów słodkich, słonych, kwaśnych i gorzkich nie stwierdzono na tyle istotnych związków, aby udało się utworzyć modele istotności wpływu poszczególnych czynników na progi rozpoznania w obu grupach (kobiet i mężczyzn). Dlatego stworzono model dla wszystkich badanych, bez podziału na grupy, w którym oszacowano wpływ zmiennych niezależnych, tj. wieku, płci, częstości spożycia i preferencji na wartość progu rozpoznania smaku słodkiego, słonego, kwaśnego i gorzkiego. Wyniki przeprowadzonych testów przedstawiono w tabelach 6a i 6b. Oprócz wartości  $p$  podano w niej także wartości korelacji rang Spearmana ( $r_s$ ) dla cech ilościowych oraz  $U$  Manna-Whitneya ( $Z$ ) dla cech jakościowych. Ich znak wskazywał na ujemną lub dodatnią korelację zmiennych niezależnych z progami rozpoznania.

Stwierdzono istotny związek częstości spożycia słodkiego nabiału ( $p = 0,034$ ) i deserów ( $p = 0,036$ ) z wartościami progu rozpoznania sacharozy. Obie wykazały korelację ujemną – im większa preferencja wobec tych grup produktów, tym niższy próg rozpoznania sacharozy.

Wielkość progu rozpoznania smaku słonego była skorelowana dodatnio z wiekiem ( $p = 0,048$ ) oraz płcią ( $p = 0,042$ ). Im starsi badani, tym wyższe były ich progi rozpoznania smaku słonego. Mężczyźni wykazywali wyższe progi rozpoznania chlorku sodu niż kobiety.

Wykazano, że próg rozpoznania smaku kwaśnego był istotnie skorelowany z lubieniem smaku kwaśnego ( $p = 0,011$ ), jak również preferowaniem kwaśnych owoców ( $p = 0,034$ ), soków ( $p = 0,015$ ) i słodczy ( $p = 0,010$ ). Wszystkie korelacje miały znak dodatni.

W przypadku smaku gorzkiego nie stwierdzono związku żadnej z badanych zmiennych na wartość progu rozpoznania.

**Tabela 6a.** Istotność związku między badanymi zmiennymi a progami rozpoznania smaków ( $r_s$  – współczynnik korelacji rang Spearmana, Z – test U Manna-Whitneya)

<b>Smak słodki</b>	<b>Wartość testu</b>	<b>Wartość p</b>	
Wiek (lata)	$r_s = 0,057$	$> 0,05$	
Płeć	$Z = 0,484$	$> 0,05$	
Częstość spożycia ...	słodkie owoce	$r_s = -0,018$	$> 0,05$
	słodycze	$r_s = 0,087$	$> 0,05$
	słodki nabiał	$r_s = -0,216$	0,034
	wyroby cukiernicze	$r_s = -0,112$	$> 0,05$
	dżemy, miody	$r_s = -0,088$	$> 0,05$
	desery	$r_s = -0,215$	0,036
	słodkie napoje	$r_s = -0,141$	$> 0,05$
Lubienie smaku ... (% (n))	$Z = 0,373$	$> 0,05$	
Lubienie słodkich... (% (n))	pieczywa cukierniczego	$Z = -1,007$	$> 0,05$
	owoców	$Z = -0,717$	$> 0,05$
	słodczy	$Z = 1,035$	$> 0,05$
	napojów	$Z = 0,123$	$> 0,05$
	napojów mlecznych	$Z = 1,189$	$> 0,05$
	pieczywa półcukierniczego	$Z = 1,683$	$> 0,05$
	deserów mlecznych	$Z = 0,894$	$> 0,05$
	owsianek, kaszek	$Z = 1,120$	$> 0,05$
<b>Smak słony</b>			
Wiek	$r_s = 0,198$	0,048	
Płeć	$Z = -2,029$	0,042	
Częstość spożywania ...	produkty mięsne	$r_s = 0,111$	$> 0,05$
	nabiał	$r_s = -0,052$	$> 0,05$
	słone przekąski	$r_s = 0,046$	$> 0,05$
	dania gotowe	$r_s = 0,061$	$> 0,05$
	słone warzywa	$r_s = 0,076$	$> 0,05$
	pieczywo	$r_s = -0,088$	$> 0,05$
Lubienie smaku ... (% (n))	$Z = 1,353$	$> 0,05$	
Lubienie słonych... (% (n))	kaszk, makaronów	$Z = -0,111$	$> 0,05$
	mięś i produktów mięsnych	$Z = -0,942$	$> 0,05$
	zup/dań gotowych	$Z = -0,395$	$> 0,05$
	ryb	$Z = -1,127$	$> 0,05$
	jaj	$Z = -0,085$	$> 0,05$
	warzyw gotowanych	$Z = 0,011$	$> 0,05$
	warzyw surowych	$Z = -0,733$	$> 0,05$
	serów	$Z = -0,809$	$> 0,05$

**Tabela 6b.** Istotność związku między badanymi zmiennymi a progami rozpoznania smaków ( $r_s$  – współczynnik korelacji rang Spearmana, Z – test U Manna-Whitneya)

<b>Smak kwaśny</b>	<b>Wartość testu</b>	<b>Wartość p</b>
Wiek (lata)	$r_s = 0,057$	$> 0,05$
Płeć	$Z = -1,417$	$> 0,05$
Lubienie smaku ... (% (n))	$Z = 2,541$	0,011
marynat	$Z = 1,786$	$> 0,05$
owoców	$Z = 2,125$	0,034
soków	$Z = 2,422$	0,015
Lubienie kwaśnych... (% (n))	$Z = 0,122$	$> 0,05$
słodczy	$Z = 2,576$	0,010
ciast	$Z = 1,288$	$> 0,05$
napojów mlecznych	$Z = 0,929$	$> 0,05$
deserów mlecznych	$Z = -0,215$	$> 0,05$
<b>Smak gorzki</b>		
Wiek (lata)	$r_s = 0,189$	$> 0,05$
Płeć	$Z = 1,212$	$> 0,05$
Lubienie smaku ... (% (n))	$Z = -1,087$	$> 0,05$
napojów typu tonic	$Z = -0,282$	$> 0,05$
kawy, herbaty	$Z = -1,366$	$> 0,05$
Lubienie gorzkich... (% (n))	$Z = -2,059$	0,039
produktów mlecznych	$Z = 1,123$	$> 0,05$
owoców	$Z = 1,575$	$> 0,05$
warzyw	$Z = 1,375$	$> 0,05$

W dalszym etapie, w celu sprawdzenia możliwości przewidywania wrażliwości sensorycznej, mierzonej wielkością progów rozpoznania czterech podstawowych smaków w oparciu o informacje dotyczące wieku, płci, częstości spożywania wybranych kategorii produktów słodkich i słonych oraz preferencji smaków podstawowych, a także produktów słodkich, słonych i kwaśnych, przeprowadzono analizę regresji liniowej. Pozwoliła ona na uwzględnienie w prezentowanym modelu wielu czynników jednocześnie i ich hierarchiczne uporządkowanie.

Do wieloczynnikowego hierarchicznego modelu regresji (tab. 7) dla smaku słodkiego wprowadzono dwa predyktory (częstość spożycia słodkiego nabiału i deserów), które istotnie korelowały z progami rozpoznania smaku słodkiego (tab. 6). Zmienną zależną w modelu były progi rozpoznania sacharozy. Model okazał się dobrze dopasowany do danych i pozwolił na przewidywanie zmian w wielkości progów rozpoznania –  $F(1,94) = 4,41$ ;  $p < 0,05$ . Wyjaśnił 5% wariancji w zakresie progów rozpoznania sacharozy. Predyktorem, który miał najsilniejszy wpływ na próg odczuwania smaku słodkiego, była częstość spożycia słodkiego nabiału ( $p = 0,047$ ). Model pozwolił wskazać, że wzrost częstości spożycia

słodkiego nabiątu wpływa na wzrost wartości progu rozpoznania smaku słodkiego. Wpływ częstości spożycia słodkich deserów wykazywał tendencję do istotności.

Na podstawie korelacji przedstawionych w tabeli 6, do wieloczynnikowego hierarchicznego modelu regresji dla smaku słonego wprowadzono dwa istotne statystycznie predyktory, tj. wiek i płeć osób badanych (tab. 7). Model, dość dobrze dopasowany do danych ( $F(1,99) = 3,65$ ;  $p < 0,05$ ) wyjaśnił 3% zmienności w zakresie rozpoznania chlorku sodu. Wpływ płci na wartość progu rozpoznania smaku słonego wykazywał tendencję zmierzającą do istotności. Współczynnik  $\beta$  wskazał, że płeć męska wpływa na wzrost wartości progu rozpoznania chlorku sodu. Wpływ wieku nie był istotny.

**Tabela 7.** Modele do oceny predyktorów progów rozpoznania trzech podstawowych smaków, uzyskane w hierarchicznej analizie regresji wielokrotnej

Predyktory	R <sup>2</sup>	$\beta$	F	Wartość p
<b>Model 1 – smak słodki</b>	0,05		4,41	0,038
częstość spożycia słodkiego nabiątu		-0,26		0,047
częstość spożycia słodkich deserów		0,27		0,071
<b>Model 2 – smak słony</b>	0,03		3,65	0,049
płeć		0,02		0,090
<b>Model 3 – smak kwaśny</b>	0,09		5,25	0,007
lubienie kwaśnych soków		-0,01		0,037
lubienie smaku kwaśnego		-0,06		0,065

Do zbudowania wieloczynnikowego hierarchicznego modelu regresji dla smaku kwaśnego użyto czterech zmiennych (lubienie smaku kwaśnego, lubienie kwaśnych owoców, soków i słodczy), dla których wykazano istotne korelacje z progami rozpoznania smaku kwasu cytrynowego (tab. 6). Dwa z nich okazały się istotne w przewidywaniu zmian w wartości progu rozpoznania. Zbudowany model był najlepiej, spośród uzyskanych, dopasowany do danych ( $F(2,99) = 3,65$ ;  $p < 0,05$ ); wyjaśniał 9% wariacji progów rozpoznania smaku kwaśnego (tab. 7). Najsilniejszym predyktorem było lubienie kwaśnych soków. Silniejsza preferencja wobec nich pozwala przewidywać niższe progi rozpoznania kwasu cytrynowego.

Ze względu na brak korelacji badanych zmiennych z progiem rozpoznania kofeiny nie utworzono wieloczynnikowego hierarchicznego modelu regresji dla smaku gorzkiego.

Jak wykazano w poprzednich badaniach z udziałem ludzi starszych (Jeon i in. 2021, Jędrusek-Golińska 2019, Puputti i in. 2019), wiek jest silnym predyktorem zmian w zakresie wrażliwości sensorycznej. Wśród ludzi młodych, którzy uczestniczyli w prezentowanym badaniu, nie zaobserwowano takiej zależności. Podobnie płeć, nie miała wpływu na wrażliwość smakową, oprócz tendencji do istotności, wykazanej w modelu smaku słonego. W przypadku smaku słodkiego i kwaśnego istotne okazały się częstość spożycia słodkich deserów oraz preferencje wobec kwaśnych soków.

Opracowane modele, mimo ich dobrego dopasowania do zmiennych i licznej próby (N = 106), wyjaśniają 3 – 9% zmienności progów rozpoznania. Można przyjąć, że w percepcji badanych smaków znaczenie może mieć także zmienność międzyosobnicza (Diószegi i in. 2019, Ervina i in. 2020, García-Bailo i in. 2009), obserwowana w populacji i inne, nie uwzględnione w pracy czynniki.

#### 4. Wnioski

1. Wartości progów rozpoznania smaków słodkiego (sacharoza), słonego (chlorek sodu), kwaśnego (kwas cytrynowy) oraz gorzkiego (kofeina) nie różniły się istotnie wśród badanych kobiet i mężczyzn.
2. Wieloczynnikowy hierarchiczny model regresji dla smaku słodkiego, słonego i kwaśnego wyjaśnia 3–9% zmienności progów rozpoznania, wskazując jako istotne predyktory częstość spożycia słodkiego nabiału dla smaku słodkiego oraz lubienie smaku kwaśnego.
3. Preferencje i częstość spożycia nie wyjaśniają w pełni zmienności progów rozpoznania. Wobec powyższego należy przypuszczać, że istnieją inne, nie uwzględnione w pracy czynniki, które odgrywają ważną rolę w percepcji badanych rodzajów smaku (zmienność międzyosobnicza).

#### Literatura

1. Ahrens W. (2015). Sensory taste preferences and taste sensitivity and the association of unhealthy food patterns with overweight and obesity in primary school children in Europe—a synthesis of data from the IDEFICS study. *Flavour*, 4, 8.
2. Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I. (2009). *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków.
3. Borjes L.C., Rosetto J.M., Garcia L.M. (2015). Threshold of salty taste recognition and estimate of sodium intake among kidney-transplant recipients. *Demetra Food, Nutr, Health*, 10(2), 315-328.
4. Chamoun E., Liu A.S., Duizer L.M., Ma D.W. (2019). Taste sensitivity and taste preference measures are correlated in healthy young adults. *Chemical Senses*, 44(2), 129-134.
5. Cho H., Kim S.M., Jeong S.S., Kim S.B. (2016). Comparison of salt taste thresholds and salt usage behaviours between adults in Myanmar and Korea. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 25(4), 879-884.
6. Cox D.N., Hendrie G.A., Carty D. (2016). Sensitivity, hedonics and preferences for basic tastes and fat amongst adults and children of differing weight status: a comprehensive review. *Food Quality and Preferences*, 41, 112-120.
7. Deglaire A, Mejean C, Castetbon K. (2015). Associations between weight status and liking scores for sweet, salt and fat according to the gender in adults (The Nutrinet-Sante study). *European Journal of Clinical Nutrition*, 69, 40-46.



8. Dieuwerke P., Bolhuis L.P., Newman R., Keast S.J. (2016). Effects of salt and fat combinations on taste preference and perception. *Chemical Senses*, 41(3), 189-195.
9. Diószegi J.; Llanaj E.; Ádány R. (2019). Genetic background of taste perception, taste preferences, and its nutritional implications: A systematic review. *Frontiers in Genetics*, 10,1272.
10. Doets E. L., Kremer S. (2015). The silver sensory experience—A review of senior consumers' food perception, liking and intake. *Food Quality and Preferences*, 48, 316-332.
11. Drewnowski A., Mennella J. A., Johnson S. L., Bellisle F. (2012). Sweetness and food preference. *Journal of Nutrition*, 142(6), 1142-1148.
12. Dybkowska E., Bazarnik M., Waszkiewicz-Robak B. (2015). Pieczywo jako źródło soli w diecie. *Problemy i Higieny Epidemiologicznej*, 96(2), 482-486.
13. Ervina E., Berget I., Almlí V.L. (2020). Investigating the relationships between basic tastes sensitivities, fattiness sensitivity, and food liking in 11-year-old children. *Foods*, 9, 1315.
14. Fischer M. E., Cruickshanks K.J., Schubert C.R., Pinto A., Klein B.E.K., Klein R., Snyder, D.J. (2013). Taste intensity in the beaver dam offspring study. *Laryngoscope*, 123(6), 1399-1404.
15. García-Bailo B., Toguri C., Eny K.M., El-Sohehy A. (2009). Genetic variation in taste and its influence on food selection. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 13, 69-80.
16. Gawęcki J., Baryłko-Pikielna N. (red). (2015). *Zmysły a jakość żywności i żywienia*. Wydawnictwo UPP, Poznań.
17. Hardikar S., Hoehenberger R., Villringer A., Ohla K. (2017). Higher sensitivity to sweet and salty taste in obese compared to lean individuals. *Appetite*, 111, 158-165.
18. Hoffman A.C., Salgado R.V., Dresler C., Faller R.W., Bartlett C. (2016). Flavour preferences in youth versus adults: a review. *Tobacco Control*, 25, 32-39.
19. Jayasinghe S. N., Kruger R., Walsh D. C. I., Cao G., Rivers S., Richter M., Breier B. H. (2017). Is sweet taste perception associated with sweet food liking and intake? *Nutrients*, 9(7), 1-19.
20. Jeon S., Kim Y., Min S., Song M., Son S., Lee S. (2021). Taste sensitivity of elderly people is associated with quality of life and inadequate dietary intake. *Nutrients*, 17, 13(5), 1693.
21. Jeżewska-Zychowicz M., Gawęcki J., Wądołowska L., Czarnocińska J., Galiński G., Kołtajtis-Dołowy A., Roszkowski W., Wawrzyniak A., Przybyłowicz K., Krusińska B., Hawrysz I., Słowińska M.A., Niedźwiedzka E. (2014). Kwestionariusz do badania poglądów i zwyczajów żywieniowych dla osób w wieku od 16 do 65 lat, wersja 1.1—kwestionariusz administrowany przez ankietera-badacza. Rozdz. 1. W: J. Gawęcki (red.), *Kwestionariusz do badania poglądów i zwyczajów żywieniowych oraz procedura opracowania danych*. Warszawa: Wyd. Komitetu Nauki o Żywieniu Człowieka PAN, 3-20. Pobrano z: <http://www.knozc.pan.pl/KomPAN> (02.01.2022).

22. Jędrusek-Golińska A. (2019). Wrażliwość smakowa oraz postawy osób starszych wobec żywności ze szczególnym uwzględnieniem żywności funkcjonalnej. Wydawnictwo UPP, Poznań.
23. Kim G.H., Lee H.M. (2009). Frequent consumption of certain fast foods may be associated with an enhanced preference for salt taste. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 22, 475-80.
24. Lanfer A., Knof K., Barba G., Veidebaum T., Papoutsou S., De Henauw S., Soós T., Moreno L.A., Ahrens W., Lissner L. (2012). Taste preferences in association with dietary habits and weight status in European children: Results from the IDEFICS study. *International Journal of Obesity*, 36, 27-34.
25. Lim S.X.L., Höchenberger R.; Busch N.A., Bergmann M., Ohla K. (2022). Associations between taste and smell sensitivity, preference and quality of life in healthy aging—The NutriAct Family Study Examinations (NFSE) Cohort. *Nutrients*, 14, 1141.
26. Łoboda D., Gawęcki J. (2011). Wrażliwość smakowa młodzieży szkolnej a spożywanie przez nią słodkich napojów, słodczy i słonych przekąsek. *Problemy Higieny Epidemiologicznej*, 92(4), 983-986.
27. Low J.; Lacy K., McBride R., Keast R. (2016). The association between sweet taste function, anthropometry, and dietary intake in adults. *Nutrients*, 8(4), 241.
28. Martin L. J., Sollars S. I. (2017). Contributory role of sex differences in the variations of gustatory function. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1–2), 594-603.
29. Methven L., Allen V.J., Withers C.A., Gosney M.A., Schiffman S.S., Essed N.H., Murphy C. (2012). Ageing and taste. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(4), 556-565.
30. Murphy C., Withee J. (1986). Age-related differences in the pleasantness of chemosensory stimuli. *Psychology and Aging*, 1, 312-18.
31. Nakamura Y., Sanematsu K., Ohta R., Shirosaki S., Koyano K., Nonaka K., Shigemura N., Ninomiya Y. (2008). Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. *Diabetes*, 57(10), 2661-2665.
32. Pasquet P., Monneuse M.-O., Simmen B., Marez A, Hladik C.M. (2006). The relationship between taste thresholds and hunger under debate. *Appetite*, 46, 63--66.
33. Petty S., Salame C., Mennella J.A., Pepino M.Y. (2020). Relationship between sucrose taste detection thresholds and preferences in children, adolescents, and adults. *Nutrients* 12(7), 1918.
34. PN-EN ISO 8589:2010/A1:2014-07 - wersja angielska. Analiza sensoryczna - Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
35. PN-ISO 3972:2016-07 - wersja polska. Analiza sensoryczna - Metodyka - Metody badania wrażliwości smakowej.
36. Puputti S., Aisala H., Hoppu U., Sandell M. (2019). Factors explaining individual differences in taste sensitivity and taste modality recognition among Finnish adults. *Journal of Sensory Studies*, 34, e12506.

37. Puputti S., Aisala H., Hoppu U., Sandell, M. (2018). Multidimensional measurement of individual differences in taste perception. *Food Quality and Preferences*, 65, 10-17.
38. Sanematsu K., Nakamura Y., Nomura M., Shigemura N., Ninomiya Y. (2018). Diurnal variation of sweet taste recognition thresholds is absent in overweight and obese humans. *Nutrients*, 10 (297), 1-11.
39. Schwartz C, Issanchou S, Nicklaus S. (2009). Developmental changes in the acceptance of the five basic tastes in the first year of life. *British Journal of Nutrition*, 102, 1375-85.
40. Thakare A., P. Suresh P., Nushrat S., Santosh F., Wakode L. (2019). Taste detection and recognition thresholds among young adults of different blood groups: a pilot study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 13(12), 1-4.
41. Vennerød F.F.F., Almli V.L., Berget I., Lien N. (2017). Do parents form their children's sweet preference? The role of parents and taste sensitivity on preferences for sweetness in pre-schoolers. *Food Quality and Preferences*, 62, 172-182.
42. Williams J. A., Bartoshuk L. M., Fillingim R. B., Dotson C. D. (2016). Exploring ethnic differences in taste perception. *Chemical Senses*, 41, 449-456.
43. Yang T., Zhang L., Xu G., Yang Z., Luo Y., Li Z., Zhong K., Shi B., Zhao L., Sun P. (2022). Investigating taste sensitivity, chemesthetic sensation and their relationship with emotion perception in Chinese young and older adults. *Food Quality and Preferences*, 96, 104406.

## **Taste sensitivity of young people in relation to the frequency of consumption and preference for sweet and salty products**

### **Abstract**

The sense of taste is one of the important human senses. The reception of taste stimuli influences eating habits and, therefore, to a large extent the overall health. The aim of the study was to assess taste sensitivity, measured by the thresholds for recognizing basic tastes, among young people in connection with the frequency of consumption and preference for selected food products.

The study involved 106 healthy people from Wielkopolska, aged 18 to 39, of normal body weight. The thresholds for recognizing four basic tastes (sweet, salty, sour and bitter) were tested using the limit method, as well as the frequency of consumption of sweet and salty products and preferences using a survey questionnaire.

The thresholds for recognizing sweet (sucrose), salty (sodium chloride), sour (citric acid) and bitter (caffeine) tastes did not differ significantly among the examined women and men. A multivariate hierarchical regression model for sweet, salty and sour taste explained 3-9% of the variability in recognition thresholds, indicating the frequency of sweet dairy consumption for sweet taste and liking for sour taste as significant predictors. There was no effect of age and gender on taste sensitivity. Preference and frequency of

consumption did not fully explain the variability in recognition thresholds. It should be assumed that there are other factors, not included in the study, that play an important role in the perception of the studied types of taste (inter-individual variability).

## Możliwości zastąpienia tradycyjnego kajmaku kremami wegańskimi na bazie napoju grochowego

Agnieszka Jędrzejczak\*, Roman Zielonka, Katarzyna Zajac, Elżbieta Wojtowicz, Krzysztof Przygoński

*Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego – PIB, Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu*

\*Autor korespondencyjny: [agnieszka.jedrzejczak@ibprs.pl](mailto:agnieszka.jedrzejczak@ibprs.pl)

### Streszczenie

Celem pracy było wyprodukowanie kremu wegańskiego na bazie napoju grochowego oraz porównanie jego składu i jakości sensorycznej z tradycyjnym kajmakiem.

Sporządzono kremy roślinne w sposób zgodny z ogólnie przyjętą techniką otrzymywania kajmaku, w których surowce pochodzenia zwierzęcego zastąpiono produktami roślinnymi: napojem grochowym i olejem z orzechów włoskich. Wytworzono dwa kremy: krem roślinny z dodatkiem oleju z orzechów włoskich oraz krem roślinny *fit* (o niskiej zawartości tłuszczu). Kremy porównano z tradycyjnym kajmakiem pod względem cech sensorycznych i wartości odżywczej. Nowe produkty charakteryzowały się niższą wartością energetyczną niż tradycyjny kajmak, co jest pożądane w przypadku przygotowania dietetycznych deserów i ciast. Dzięki zastąpieniu mleka krowiego napojem grochowym nowe kremy mogą być polecane także dla osób z nietolerancją laktozy. Stwierdzono, że dodatek oleju z orzechów włoskich do kremu pozwolił uzyskać produkt o składzie podobnym do kajmaku oraz o bardzo dobrym smaku i konsystencji. Kremy wegańskie zawierają tłuszcze pochodzenia roślinnego bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe. Kremy roślinne, w porównaniu z tradycyjnym kajmakiem, charakteryzowały się mniejszą twardością i gumowatością oraz lepszą smarownością. Krem roślinny na bazie napoju grochowego może być stosowany w przemyśle cukierniczym jako wegański zamiennik tradycyjnego kajmaku.

**Słowa kluczowe:** krem wegański, kajmak, groch, napój grochowy

### 1. Wprowadzenie

Kajmak to bardzo słodka, zhomogenizowana masa, w formie pasty lub kremu otrzymywana w procesie gotowania, karmelizacji i odparowywania wody w wysokiej temperaturze, z mieszaniny mleka lub śmietanki i cukru. Najczęściej stosuje się mleko krowie i cukier buraczany lub trzcinowy. Masę kajmakową wykorzystuje się w przemyśle cukierniczym lub w warunkach domowych do przekładania mazurków, ciastek i wafli. Smak masy kajmakowej można wzbogacić dodatkiem wanilii, kawy, czekolady, kakao, itp. (<http://nck.pl>).

W Polsce krem ten jest znany od czasów Stanisława Augusta (XVIII wiek). Dzięki kontaktom z kuchniami Wschodu, kajmak przybył do nas z Turcji (tur. *Kajmak*), gdzie przygotowano go z mleka bawolicy domowej. Najpierw długo je podgrzewano, a następnie pozostawiano do powolnej fermentacji, dzięki czemu otrzymywano tłustą, bardzo gęstą,

kremową, neutralną lub lekko słonawą masę śmietankową. W ówczesnej Polsce ze względu na upodobania konsumentów zmodyfikowano recepturę o dodatek cukru, a z powodu jego wysokiej ceny, z początku krem ten pojawiał się wyłącznie na szlacheckich stołach. W drugiej połowie XIX wieku, wraz z obniżeniem cen cukru, produkt ten stał się popularniejszy, a do receptury zaczęto dodawać tłuszcz. Od tamtej pory był dobrze znany w kuchni kresowej (<http://www.gov.pl/web/rolnictwo/kajmak>). Niesłodzony krem jest znany także w Iraku (*qaimar*) czy Afganistanie (*qymaq*). Anglicy przygotowują *clotted cream*, z niepasteryzowanego mleka krowiego. Sam kajmak jest jednym z ważniejszych składników angielskiego ciasta *banoffee pie*. Argentyniacy natomiast wytwarzają specjał bardzo podobny do polskiego kajmaku – *dulce de leche*, różniący się głównie dodatkiem sody oczyszczonej, poprawiającej gładkość kremu i regulującej odczyn kwasowy (Stephani i in. 2019).

W 2007 roku produkt o nazwie „kajmak” został wpisany na listę produktów tradycyjnych województwa kujawsko-pomorskiego (<http://www.gov.pl/web/rolnictwo/kajmak>). Stąd, w niniejszej pracy dotyczącej tzw. „kajmaków roślinnych”, wprowadzono nazewnictwo kremów roślinnych (w odróżnieniu od klasycznych wyrobów nabiiałowych). Kajmak w temperaturze pokojowej charakteryzuje się gęstą, ciągliwą, plastyczną i kleistą konsystencją. To przywierająca do łyżki masa, o połyskliwej powierzchni oraz brązowym kolorze. W klasycznym kajmaku, większą część suchej substancji stanowi sacharoza i mleko (w tym laktoza, białka kazeinowe i serwatkowe oraz tłuszcz). Proporcja ilości składników mlecznych do składników cukrowych stanowi o unikalnych właściwościach produktu: konsystencji, smaku i aromacie (<http://www.gov.pl/web/rolnictwo/kajmak>).

Na skutek zapytań pochodzących od producentów produktów spożywczych, w Zakładzie Koncentratów IBPRS-PIB przystąpiono do opracowania kremu z udziałem składnika izolowanego z nasion grochu, jako propozycji skierowanej do wegan i fleksitarian, których krąg w ostatnich latach dynamicznie się rozszerza. Dodatkową zaletą stosowania produktów zawierających w swym składzie wyłącznie produkty roślinne jest wyeliminowanie laktozy, która stanowi problem dla osób cierpiących na nietolerancję laktozy (Kable i in. 2023). W recepturach produktów wegańskich wykorzystuje się jako zamienniki mleka np. ekstrakty roślinne, wytwarzane na bazie mleczka kokosowego i tłuszczu kokosowego, soi, daktyli, migdałów lub zbóż. W niniejszej pracy jako substytut mleka krowiego użyto napoju grochowego otrzymanego według technologii producenta – firmy Wellpod Sp. z o.o.

Celem pracy było opracowanie kremu wegańskiego na bazie napoju grochowego oraz porównanie jego składu i jakości sensorycznej z tradycyjnym kajmakiem.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Materiał badany**

W pracy wykorzystano:

- Kajmak tradycyjny krem mleczny – produkt handlowy (Polder Sp. z o.o.), wytworzony na bazie mleka krowiego;

- Krem roślinny fit wytworzony w warunkach laboratoryjnych na bazie napoju grochowego (substytutu mleka krowiego) otrzymanego wg technologii firmy Wellpod Sp. z o.o. (ekstrakcja białek i biokonwersja cukrów z nasion grochu, utrwalanie techniką UHT);
- Krem roślinny wytworzony w warunkach laboratoryjnych na bazie napoju grochowego (substytutu mleka krowiego) otrzymanego wg technologii firmy Wellpod Sp. z o.o. poprzez dodanie do jeszcze ciepłego kremu roślinnego fit oleju z orzechów włoskich (producent: Bio Planète).

W procesie wytwarzania w warunkach laboratoryjnych kremów roślinnych wg receptury stanowiącej *know how* IBPRS-PIB stosowano cukier buraczany (producent: Diamand, Pfeifer & Langen). Masę gotowano przez kilka godzin w temperaturze wrzenia, do momentu otrzymania pożądanych barwy, smaku i lepkości. Materiały badane przedstawiono na rysunku 1.



**Rysunek 1.** Od lewej: krem roślinny *fit*, krem roślinny, kajmak tradycyjny

## 2.2. Metody badań

### 2.2.1. Analiza sensoryczna

Analizę sensoryczną produktów przeprowadzono metodą profilowania smakowitości wg PN-ISO 6564:1999, w grupie 6 osób, wcześniej przeszkolonych (ekspertów). Do oceny barwy, wyglądu i smakowitości kremów i kajmaku wybrano wyróżniki sensoryczne charakterystyczne dla kajmaku tradycyjnego. Były to: barwa, zapach (kajmakowy, strączkowy, obcy), smak (kajmakowy, strączkowy, słodki, tłuszczowy, obcy), konsystencja (gładkość, kleistość, twardość) oraz ocena ogólna. Ekspertki oceniali każdą cechę posługując się liniową skalą graficzną o odcinku długości 10 cm z zaznaczonymi określeniami brzegowymi. Otrzymane wyniki poddane zostały konwersji do wartości liczbowej w jednostkach umownych (j.u.) w skali od 0 do 10.

### 2.2.2. Analizy chemiczne i instrumentalne

Przeprowadzono następujące analizy:

- Oznaczanie zawartości wody wg PN-A-79011-3:1998, p. 2.2.3, p. 2.3;

- Oznaczanie zawartości sacharozy metodą Schoorla-Regenboga wg PN-A-79011-5:1998, p. 2.4;
- Oznaczanie zawartości białka metodą Kjeldahla wg PB-ZK/PK 09 wyd. 3;
- Oznaczanie zawartości tłuszczu Weilbulla-Stoldta wg PN-EN ISO 3947:2001;
- Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego i nierozpuszczalnego w 10% HCl wg PN-A-79011-8:1998;
- Oznaczanie wartości kalorycznej wg PN-A-79011-6:1998;
- Oznaczanie udziału procentowego kwasów tłuszczowych nasyconych w ogólnej ilości tłuszczu techniką chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym GC-FID wg PN-EN ISO 12966-1:2015, po uprzednim przeprowadzeniu triacylogliceroli obecnych w próbce w estry metylowe kwasów tłuszczowych wg PN-EN ISO 12966-2:2011;
- Oznaczanie profilu cukrowego – zawartości fruktozy, glukozy, galaktozy, sacharozy, laktozy i maltozy oraz zawartości galaktooligosacharydów (rafinozy, stachiozy, werbaskozy) w procentach wagowych ogólnej ilości cukrów techniką HPLC wg procedury własnej (ekstrakcja cukrów, oczyszczenie ekstraktu, rozdzielanie chromatograficzne – chromatograf cieczowy z detektorem refraktometrycznym (f. SHODEX), kolumna chromatograficzna APS-2 Hypersil (Thermo Electron Corporation): 5  $\mu$ m, 150  $\times$  4,6 mm);
- Wyznaczanie parametrów tekstury (twardości, adhezyności, spójności, sprężystości i gumowatości) kremów roślinnych techniką instrumentalną (teksturometr TXA, Stable Micro Systems): dwukrotna penetracja próbek o masie 40 g umieszczonych w naczyniu o średnicy 45 mm sondą cylindryczną o średnicy 10 mm, na głębokość 20 mm i z prędkością 0,50 mm/s.

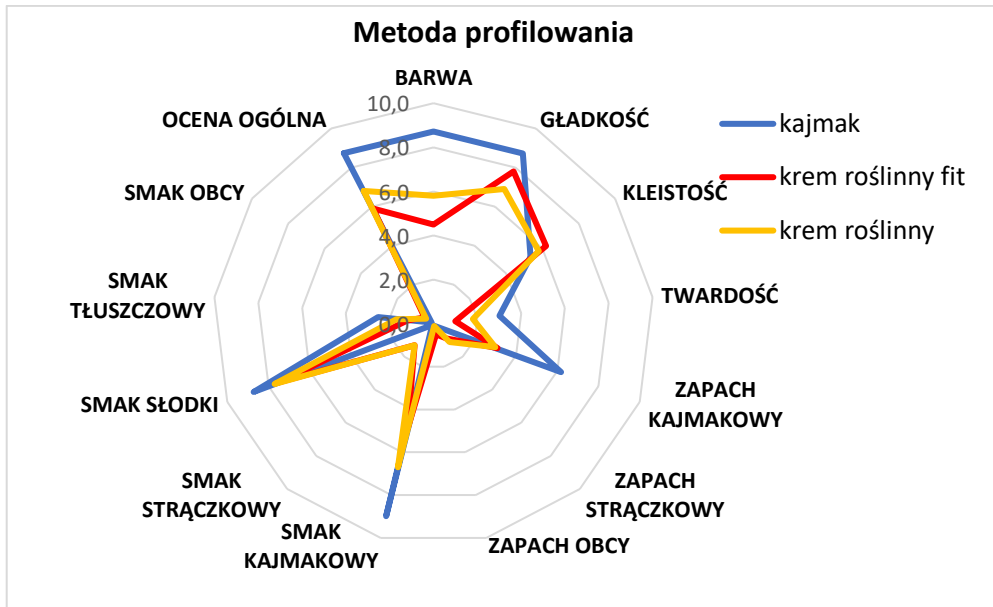
Wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej. Wyniki przedstawiono jako średnią z trzech oznaczeń  $\pm$  odchylenie standardowe i poddano jednoczynnikowej analizie wariancji ( $p < 0,05$ ). Do wyznaczenia różnic pomiędzy średnimi zastosowano test t-Studenta. Do analiz wykorzystano program Statistica 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

### **3. Wyniki i dyskusja**

#### **3.1. Analiza sensoryczna**

Wyniki analizy sensorycznej przeprowadzonej metodą profilowania przedstawiono graficznie przy pomocy wykresu radarowego (rys. 2).





**Rysunek 2.** Wyniki analizy sensorycznej kajmaku tradycyjnego oraz kremów roślinnych

Wszystkie produkty charakteryzowały się barwą brązową – od jasnobrązowej w kremach roślinnych do ciemnobrązowej w kajmaku. Zapach kajmakowy był wyraźnie wyczuwalny w próbce kajmaku tradycyjnego (6.2 j.u.). W pozostałych próbkach został oceniony na poziomie 3-3,1 j.u. Wykorzystanie grochu do produkcji żywności jest ograniczone, ze względu na związki zapachowo-smakowe, określane jako „trawiaste”, „zielone”, „podobne do siana” (Yousseff i in. 2016). W związku z tym, stwierdzono, że ocena zapachu i posmaku grochowego jest bardzo istotna w ogólnej ocenie sensorycznej jakości kremów roślinnych. W badaniach sensorycznych alternatywy serków przygotowanych z białka grochowego (Zajac i Zielonka 2019) smak i zapach strączkowe były maskowane poprzez zastosowanie dodatków smakowo-zapachowych. W otrzymanych w ramach tej pracy kremach, zapach strączkowy był niewyczuwalny. Nie stwierdzono również zapachów obcych. Smak kajmakowy określa się jako charakterystyczny, mleczno-karmelowy. Smak kajmakowy tradycyjnego kajmaku został oceniony na 9,0 j.u., natomiast kremu roślinnego na 6,7 j.u., a kremu fit na 4,9 j.u. Smak strączkowy nie był wyczuwalny w kremach pochodzenia roślinnego (1,3 j.u.). Słodki smak kajmaku tradycyjnego jest charakterystyczny dla tego produktu, w związku z tym był pożądanym dla nowych kremów. Smak słodki oceniony został w kajmaku na poziomie 8,7 j.u., natomiast w kremach roślinnym i roślinnym fit odpowiednio 7,7 i 7,5 j.u.

Na podstawie wyników analizy sensorycznej stwierdzono, że konsystencja kremów roślinnych była nieco mniej gładka na języku niż konsystencja kajmaku. Kleistość wszystkich próbek została oceniona na zbliżonym poziomie. Stwierdzono mniejszą twardość kremów w porównaniu z kajmakiem, co jest korzystne z uwagi na smarowność.

Wyniki oceny jakości sensorycznej produktów wykazały, że krem roślinny z dodatkiem oleju z orzechów włoskich został oceniony wysoko, tylko o 1,9 j.u. niżej niż kajmak tradycyjny. Jakość ogólna jest pozytywnie związana z optymalną intensywnością kluczowych atrybutów smaku i zapachu (Hoffmann i Kostyra 2015).

### 3.2. Wartość odżywcza

W tabeli 1 przedstawiono wyniki wyznaczania wartości odżywczej kajmaku i kremów roślinnych. Stwierdzono, że wytworzone próbki kremów roślinnych charakteryzowały się mniejszą zawartością suchej substancji (58,5%, 67,2%) w stosunku do tradycyjnego kajmaku (73,7%). Większa zawartość suchej substancji kremu roślinnego w stosunku do kremu roślinnego fit wynikała z dodatku oleju. Kremy roślinne charakteryzowały się mniejszą zawartością cukrów (37,3%, 36,6%) w stosunku do kajmaku (43,3%), co było korzystne z punktu widzenia dietetycznego. Krem roślinny i kajmak charakteryzowały się zbliżoną zawartością białka (8,1%, 8,3%), lecz było ono różnego pochodzenia. Kremy roślinne nie zawierają kazeiny, która może być przyczyną alergii pokarmowej. Niska zawartość tłuszczu (0,6%) w kremie fit wpłynęła bezpośrednio na niższą kaloryczność tego produktu.

**Tabela 1.** Wartość odżywcza kremów

Parametr	Krem roślinny fit	Krem roślinny	Kajmak krem mleczny tradycyjny
Wartość energetyczna (kJ/100 g)	989	1283	1432
Cukry (g/100 g)	37,32 <sup>a</sup> ± 1,26	36,56 <sup>a</sup> ± 1,25	43,32 <sup>b</sup> ± 1,36
Tłuszcz (g/100 g)	0,57 <sup>b</sup> ± 0,06	7,89 <sup>a</sup> ± 0,09	10,47 <sup>c</sup> ± 0,10
w tym nasycone kwasy tłuszczowe (g/100 g)	nie badano	0,83 <sup>a</sup> ± 0,03	7,41 <sup>b</sup> ± 0,30
Białko (g/100 g)	8,55 <sup>b</sup> ± 0,49	8,07 <sup>a</sup> ± 0,46	8,31 <sup>a</sup> ± 0,47
Woda (g/100 g)	41,55 <sup>b</sup> ± 0,05	32,84 <sup>a</sup> ± 0,04	26,32 <sup>c</sup> ± 0,03
Popiół (g/100 g)	0,97 <sup>a</sup> ± 0,04	0,97 <sup>a</sup> ± 0,04	1,76 <sup>b</sup> ± 0,05

Objaśnienia: Różne litery przy wartościach w wierszach wskazują na istotne statystycznie różnice między średnimi (n = 3) (test t-Studenta, p < 0,05).

### 3.3. Profil cukrowy

Wykonano oznaczenie profilu cukrowego kajmaku i kremów. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

**Tabela 2.** Profil cukrowy kremów

Cukier	Krem roślinny fit	Krem roślinny	Kajmak krem mleczny tradycyjny
Udział %			
Fruktoza	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,41 <sup>b</sup> ± 0,02
Glukoza	2,93 <sup>a</sup> ± 0,04	2,82 <sup>b</sup> ± 0,06	0,87 <sup>c</sup> ± 0,05
Galaktoza	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
Sacharoza	18,23 <sup>a</sup> ± 0,02	17,67 <sup>b</sup> ± 0,12	26,45 <sup>c</sup> ± 0,18
Maltoza	12,04 <sup>a</sup> ± 0,05	11,60 <sup>b</sup> ± 0,19	0,00 <sup>c</sup> ± 0,00
Laktoza	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	6,45 <sup>b</sup> ± 0,22
Rafinoza	0,15 <sup>a</sup> ± 0,01	0,15 <sup>a</sup> ± 0,02	0,00 <sup>b</sup> ± 0,00
Stachioza	0,45 <sup>a</sup> ± 0,03	0,48 <sup>a</sup> ± 0,05	0,00 <sup>b</sup> ± 0,00
Werbaskoza	1,05 <sup>a</sup> ± 0,08	0,98 <sup>a</sup> ± 0,07	0,00 <sup>b</sup> ± 0,00

Objaśnienia: jak pod tabelą 1

Produkty różniły się profilem cukrowym. Głównymi cukrami w kajmaku i kremach były dwucukry (odpowiednio sacharoza i laktoza oraz sacharoza i maltoza), przy czym w kremach roślinnych stanowiły one łącznie ok. 30% wszystkich cukrów (ok. 18% sacharozy i ok. 12% maltozy). W przypadku kajmaku sacharoza stanowiła 26,45%, a laktoza 6,45% w udziale wszystkich cukrów. W przypadku produktów roślinnych maltoza pochodzi z napoju grochowego, zaś laktoza w kajmaku pochodzi z mleka krowiego.

Zawartość sacharozy w suchej substancji kajmaku wynosiła 35,9%, natomiast w kremie roślinnym fit – 1,2%, a w kremie roślinnym – 26,3%. Galaktooligosacharydy (rafinoza, stachioza, werbaskoza) występujące w kremach roślinnych w niewielkiej ilości (ok. 2,5% s.s.) stanowią frakcję rozpuszczalną błonnika pokarmowego. Brak laktozy w próbkach roślinnych jest korzystny dla osób z nietolerancją laktozy. Niewielkie ilości fruktozy i glukozy, powstałych w procesie produkcji kajmaku jako produkty uboczne nie wpłynęły w istotny sposób na wyniki sensorycznej oceny produktów.

Na podstawie wyników oceny sensorycznej i wyznaczonej wartości odżywczej produktów, do dalszych badań wybrano krem roślinny z dodatkiem oleju z orzechów włoskich, który może zastąpić tradycyjny kajmak w wyrobach cukierniczych. Jego wartość odżywcza była zbliżona do wartości odżywczej tradycyjnego kajmaku, a ogólna ocena sensoryczna była wyższa niż kremu roślinnego fit.

### 3.4. Udział kwasów tłuszczowych nienasyconych w tłuszczu

W kremie roślinnym i kajmaku oznaczono zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych wyrażoną w procentach wagowych ilości tłuszczu ogółem (tab. 3).

**Tabela 3.** Udział procentowy kwasów tłuszczowych nienasyconych i izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w ilości tłuszczu ogółem w kremach

Parametr	Krem roślinny	Kajmak krem mleczny tradycyjny
	Udział %	
Nienasycone kwasy tłuszczowe	89,50 ± 3,58	29,20 ± 1,17
Izomery <i>trans</i> kwasów tłuszczowych	nie wykryto	nie wykryto

W tradycyjnej produkcji kajmaku tłuszcz korzystnie wpływa na gładkość i właściwości sensoryczne, w tym smak i aromat. Tłuszcz tradycyjnie pochodzi z mleka krowiego (masło lub śmietanka), który charakteryzuje się stosunkowo wysoką zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych. By zbliżyć zawartość tłuszczu ogółem w kremie grochowym do kajmaku tradycyjnego, produkt roślinny wzbogacono o dodatek oleju z orzechów włoskich, który poza walorami sensorycznymi posiada też NNKT – kwasy omega-6 (Liu i in. 2023). Analiza wykazała, że w kremie roślinnym zawartość kwasów tłuszczowych nienasyconych wynosi aż 7,06%. W kajmaku tłuszcz jest pochodzenia zwierzęcego, co skutkuje tym, że przy zawartości 10,47% tłuszczu ogółem w produkcie, 3,06% składników stanowią nienasycone kwasy tłuszczowe. W próbkach nie wykryto niekorzystnych dla zdrowia izomerów *trans* kwasów tłuszczowych.

### 3.5. Parametry tekstury

Przeprowadzono badania tekstury kremu roślinnego i kajmaku. Wyniki pomiarów zestawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Parametry tekstury kremów

Parametr	Krem roślinny	Kajmak krem mleczny tradycyjny
Twardość (N)	0,40 ± 0,10	1,20 ± 0,30
Adhezyjność (N-s)	-6,61 ± 0,60	-25,89 ± 1,60
Spójność (-)	0,78 ± 0,05	0,80 ± 0,05
Sprężystość (mm)	0,93 ± 0,02	0,98 ± 0,02
Gumowatość (N)	0,31 ± 0,08	0,96 ± 0,11

Twardość kremu roślinnego była trzykrotnie mniejsza niż twardość kajmaku, co odzwierciedlają także wyniki oceny tekstury kremów metodą sensoryczną. Krem roślinny charakteryzował się mniejszą adhezyjnością. Wartości zarówno spójności, jak i sprężystości porównywanych kremów były podobne. Gumowatości kremu roślinnego była trzykrotnie mniejsza niż gumowatość kajmaku. Znajomość określanych cech kremu roślinnego

pozwole przewidzieć cechy funkcjonalne tego produktu i zaproponować wykorzystanie go w produktach cukierniczych.

#### 4. Podsumowanie

1. Kremy roślinne charakteryzowały się wysoką ogólną oceną sensoryczną.
2. Dzięki dodatkowi tłuszczu krem roślinny był bardziej zbliżony składem odżywczym do kremu mlecznego tradycyjnego.
3. Bazując na składnikach roślinnych wyeliminowano ze składu laktozę, co jest istotne dla osób z nietolerancją tego cukru.
4. Krem roślinny zawierał dużą ilość nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz nie zawierał izomerów *trans* kwasów tłuszczowych, co jest bardzo korzystne dla zdrowia.
5. Opracowany krem roślinny charakteryzował się cechami użytkowymi zbliżonymi do cech tradycyjnego kajmaku.
6. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że krem roślinny na bazie napoju grochowego może zastąpić tradycyjny kajmak w wegańskich wyrobach cukierniczych.

#### Literatura

1. Hoffmann M., Kostyra E. (2015). Jakość sensoryczna i wartość odżywcza wegańskich substytutów mleka krowiego. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1, 52-57.
2. Kable M. E., Chin E. L., Huang L., Stephensen C. B., Lemay D. G. (2023). Association of estimated daily lactose consumption, lactase persistence genotype (rs4988235), and gut microbiota in healthy adults in the United States. *The Journal of Nutrition*, 153, 2163-2173.
3. Liu M., Wang X., Zhang Y., Xu L., Liu Y., Yub L., Mab F., Wang X., Gong Z., Zhang L., Li P. (2023). Chemical composition of walnuts from three regions in China. *Oil Crop Science*, 8(1), 56-60.
4. Stephani R., Francisquini J., Perrone Í. T., de Carvalho A. F., de Oliveira L. F. C. (2019). Dulce de leche – chemistry and processing technology. In: *Milk production, processing and marketing*, Edited by Khalid Javed, IntechOpen, pp.1-18.
5. Yousseff M., Lafarge C., Valentin D., Lubbers S., Husson F. (2016). Fermentation of cow milk and/or pea milk mixtures by different starter cultures: Physico-chemical and sensorial properties. *LWT- Food Science and Technology* (69), 430-437.
6. Zajac K., Zielonka R. (2019). Ocena jakości serków grochowych otrzymywanych z wyizolowanych białek nasion grochu. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego*, 74(2), 20-31.
7. <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/kajmak>, dostęp: 19.10.2023
8. <https://nck.pl/projekty-kulturalne/projekty/ojczysty-dodaj-do-ulubionych/ciekawostki-jezykowe/kajmak,cltt,K>, dostęp: 27.07.2023
9. PN-A-79011-5:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości cukrów.

- 10.PN-A-79011-3:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody.
- 11.PN-A-79011-8:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego i popiołu nierozpuszczalnego w 10 procentowym (m/m) roztworze kwasu chlorowodorowego.
- 12.PN-A-79011-6:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie wartości kalorycznej.
- 13.PN-ISO 6564:1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metody profilowania smakowości.
- 14.PN-EN ISO 3947:2001. Skrobie naturalne i zmodyfikowane. Oznaczanie całkowitej zawartości tłuszczu.
- 15.PN-EN ISO 12966-1:2015. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metyloowych kwasów tłuszczowych. Część 1: Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metyloowych kwasów tłuszczowych.
- 16.PN-EN ISO 12966-2:2011. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metyloowych kwasów tłuszczowych. Część 2: Przygotowanie estrów metyloowych kwasów tłuszczowych (norma wycofana).

## **The possibility of substitution traditional kajmak by vegan cream based on pea drink**

### **Abstract**

The aim of this study was to develop pea drink-based vegan cream and compare its composition and sensory quality against traditional kajmak. Plant-based creams were created in accordance with the technique used for making kajmak, in which animal-derived ingredients were replaced by plant-based ones, i.e. pea drink and walnut oil. As a result of that process, two creams were developed: a plant-based cream with added walnut oil and a fit low-fat plant-based cream. The creams were compared with a traditional kajmak. New products had lower caloric values than traditional kajmak, which is desired when preparing dietary desserts and cakes. In addition, by replacing cow's milk with pea drink, the newly created creams can be recommended for lactose-intolerant consumers. Furthermore, it has been observed that the added walnut oil allowed the development of a tasty product of a good consistency with a similar composition to that of kajmak. Moreover, vegan creams primarily consist of plant-based fats which are predominantly desirable unsaturated fat acids. What is more, plant-based creams can be characterised not only by reduced hardness and gumminess but also by better spreadability. To sum up, pea drink-based vegan creams can be an alternative to traditional kajmak and can be used in the confectionary industry.

## **Wpływ spożycia kofeiny z różnych źródeł na ilość i jakość snu osób dorosłych – badania ankietowe**

Marta Kaczmarczyk

*Szkoła Zdrowia Publicznego, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności,  
Koło Naukowe Żywienia i Profilaktyki Żywnościowej  
marta.kaczmarczyk.3@student.uwm.edu.pl*

### **Streszczenie**

Źródła spożywcze kofeiny to między innymi kawa, herbata, gorzka czekolada czy napoje energetyzujące, znajdziemy ten składnik również w suplementach diety. Efekt przyjmowania kofeiny może być różny w zależności od jej źródła; ma to związek między innymi z zawartością innych związków bioaktywnych. Ich wspólne występowanie może nasilać efekt działania kofeiny lub go niwelować. Jednym z niekorzystnych skutków spożywania kofeiny jest jej możliwy negatywny wpływ na sen, zarówno jego ilość, jak i jakość. Badania subiektywnego wpływu spożycia kofeiny z różnych źródeł na ilość i jakość snu dokonano za pomocą autorskiego, samowrotnego kwestionariusza online. W kwestionariuszu zawarto pytania dotyczące częstotliwości spożycia produktów zawierających kofeinę oraz w drugiej części – pytania dotyczące między innymi odczuwanego zmęczenia w ciągu dnia oraz zaraz po przebudzeniu. Pytano również o trudności w zasypianiu oraz budzeniu się o określonej porze. Celem badania było określenie wpływu spożycia kofeiny na stopień odczuwania pobudzenia, zaspania oraz zmęczenia w ciągu dnia przez ankietowanych. W badaniu udział wzięły 192 osoby, które podzielono na grupy w zależności od źródła najczęściej przyjmowanej kofeiny. W przypadku, gdy ankietowana osoba spożywała kofeinę z kilku źródeł z tą samą częstotliwością, wybierano produkt o najwyższej zawartości kofeiny. Średni stopień zmęczenia odczuwany w ciągu dnia przez ogół badanych, w skali od 1 do 5, oceniany był na 3,32, zaspania – 2,77, a pobudzenia – 2,64. Największy średni stopień zmęczenia odczuwanego w ciągu dnia deklarowały najczęściej osoby stosujące suplementy diety zawierające kofeinę (4,67). Największy, średni stopień zaspania odczuwany był w grupie spożywającej najczęściej napoje energetyzujące – 3,50.

**Słowa kluczowe:** kofeina, sen, ilość i jakość snu

### **1. Wprowadzenie**

Odpowiednia ilość oraz jakość snu stanowią istotny element życia człowieka i mogą w znaczący sposób wpływać na wiele jego aspektów. Sen ma znaczenie w rozwoju funkcji mózgu u młodych osób oraz ich utrzymanie w starszym wieku. Dzięki optymalnej ilości i jakości snu, możliwe jest prawidłowe funkcjonowanie organizmu, w tym funkcji poznawczych, takich jak umiejętność wybiórczego skupienia uwagi czy myślenia twórczego (Mason i in. 2021, Wang i in. 2022). Ma to znaczenie szczególnie u osób starszych. Wraz z

wiekami dochodzi do pogorszenia jakości snu oraz funkcjonowania pamięci, zarówno krótkotrwałej, jak i epizodycznej oraz innych funkcji poznawczych. Wykazano, że wdrożenie do codziennego życia zachowań mających pozytywny wpływ na poprawę jakości i ilości snu u osób starszych może wspomagać funkcjonowanie wyżej wymienionych funkcji oraz umiejętności selektywnego skupienia uwagi, czy też sprawności psychomotorycznej (Dierzewski i in. 2018). Ponadto zapewnienie organizmowi optymalnej ilości i jakości snu sprzyja zachowaniu prawidłowej masy ciała, obniża ryzyko wystąpienia cukrzycy czy chorób układu sercowo-naczyniowego, ogranicza stres oraz ryzyko przeziębienia (Charest i i Grander 2020, Matricciani i in. 2019). Nawet jednokrotna deprawacja snu może prowadzić do spożycia prawie 400 kcal więcej w ciągu dnia (Ogilvie i Patel 2017) , a dodatkowo nieodpowiednia jakość snu zwiększa odczuwanie ochoty na pokarmy o wysokiej zawartości tłuszczu oraz węglowodanów prostych (Papatriantafyllou i in. 2022). Ma to znaczenie szczególnie wśród osób na diecie o ujemnym bilansie kalorycznym czy sportowców. Dbałość o sen sprzyja regeneracji oraz adaptacji organizmu do dużych obciążeń treningowych, charakterystycznych dla sportowców (Vitale i in. 2019). Dodatkowo osoby starające się o redukcję masy ciała, wprowadzające z dietą dodatkową aktywność fizyczną, w związku z deprawacją snu mogą odczuwać nadmierne zmęczenie, co może się negatywnie przekładać na ilość spontanicznej aktywności fizycznej w ciągu dnia (Atoui i in. 2021). Zalecenia dotyczące optymalnej ilości snu w ciągu dnia różnią się, w zależności od grupy wiekowej (tab. 1).

W celu optymalizacji jakości snu zaleca się: unikanie ekspozycji na światło niebieskie na dwie godziny przed pójściem spać, zaciemnienie oraz wyciszenie sypialni, wywietrzenie oraz obniżenie temperatury powietrza w sypialni, unikanie intensywnego wysiłku fizycznego tuż przed snem, unikanie spożywania pokarmów o dużej gęstości kalorycznej oraz dużej objętości tuż przed snem oraz unikanie spożycia kofeiny na co najmniej 6 godzin przed snem. W zaleceniach sprzyjających zachowaniu optymalnej jakości snu znaleźć można również informacje o pozytywnym wpływie dbałości o wilgotność powietrza w sypialni czy zachowaniu stałych pór zasypiania oraz budzenia się (American Academy of Sleep Medicine, 2020).

Kofeina jest antagonistą adenozyiny, związku powstającego w organizmie człowieka pod wpływem zużywania ATP, które stanowi źródło energii dla procesów biologicznych. Nagromadzenie adenozyiny prowadzi do odczuwania zmęczenia. Jej receptory zlokalizowane są w ośrodkowym układzie nerwowym. Pod względem budowy chemicznej kofeina oraz adenozyina są związkami podobnymi, w związku z czym mogą łączyć się z tym samym receptorem oraz rywalizować o przyłączenie do niego. Połączenie kofeiny z receptorem adenozyiny niweluje odczuwanie zmęczenia (Reichert i in. 2022).



**Tabela 1.** Zalecana dobową długość snu, w zależności od wieku (Hirshkowitz i in. 2015)

Grupa wiekowa		Zalecana dobową długość snu
Noworodki	0 – 3 miesiące	14–17 godzin
Niemowlęta	4 - 12 miesięcy	12–16 godzin (wliczając drzemki w ciągu dnia)
Małe dzieci	1 – 2 lata	11–14 godzin (wliczając drzemki w ciągu dnia)
Dzieci w wieku przedszkolnym	3 – 5 lat	10–13 godzin (wliczając drzemki w ciągu dnia)
Dzieci w wieku szkolnym	6 – 12 lat	9 – 12 godzin
Nastolatki	13 – 18 lat	8 – 10 godzin
Dorośli	18 – 60 lat	7 lub więcej godzin
	61 – 64 lat	7 – 9 godzin
	≥ 65 lat	7 – 8 godzin

Spożywanie kofeiny w porach wieczornych może prowadzić do wydłużenia czasu zasypiania czy obniżenia jakości snu (Drake i in. 2013). Powyższe prowadzi między innymi do zwiększonego odczuwania zmęczenia w dniu następnym, co może prowadzić do pogorszenia wyników w pracy czy w szkole (Litwiller i in. 2016). Obecnie kofeinę można znaleźć w wielu produktach spożywczych, między innymi w kawie, herbacie, napojach energetyzujących, gorzkiej czekoladzie, słodkich przekąskach takich jak batony (Wierzbička i Momoć 2022). Obecność kofeiny w wielu produktach spożywczych prowadzi do jej powszechnej dostępności oraz spożycia nawet przez dzieci i młodzież poniżej 18 roku życia (Lachenmeier i in., 2013). W tych grupach wiekowych dopuszczalne dzienne spożycie kofeiny wynosi 3 mg na kilogram masy ciała (EFSA 2015). Szczególnie niepokojące jest spożycie napojów energetyzujących przez dzieci i młodzież, bowiem ta grupa produktów zawiera około 32 mg kofeiny na 100 ml napoju, co prowadzi do łatwego przekroczenia dopuszczalnego dziennego spożycia kofeiny. W związku z powyższym w Polsce od 1 stycznia 2024 roku obowiązywać będzie nowelizacja ustawy o zdrowiu publicznym, wprowadzająca zakaz sprzedaży napojów energetyzujących osobom poniżej 18 roku życia. Zalecenia dla osób dorosłych mówią o spożyciu do 400 mg kofeiny dziennie. Dawka ta u większości zdrowych osób dorosłych nie powoduje odczuwania negatywnych skutków (EFSA 2015). Należy jednak pamiętać, że stan fizjologiczny czy przyjmowane leki mogą zmieniać metabolizm kofeiny w organizmie człowieka. Negatywne skutki zbyt dużego spożycia kofeiny w ciągu dnia to między innymi: zaburzenia pracy serca, zaburzenia funkcji poznawczych, rozrządzenie czy podenerwowanie (EFSA 2015). U osób poniżej osiemnastego roku życia na skutek nadmiernego spożycia kofeiny może dochodzić między innymi do rozwoju zaburzeń lękowych czy nasilenia stanów depresyjnych oraz zaburzeń rozwoju funkcji poznawczych (Akova i in. 2023).

Zawartość kofeiny w produktach spożywczych różni się w zależności od produktu (tab. 2). Duża jej ilość np. w napojach energetyzujących, może prowadzić do przekroczenia dopuszczalnej dziennej dawki, a jej spożycie w okresie wieczornym dodatkowo

negatywnie wpływać na ilość oraz jakość snu. Wpływ na ten proces fizjologiczny może się również różnić w zależności od źródła przyjmowanej kofeiny, ze względu na obecność innych związków.

**Tabela 2.** Zawartość kofeiny w porcji produktów spożywczych

Produkt	Wielkość porcji	Zawartość kofeiny w porcji (mg)
Kawa rozpuszczalna	250 ml	60 (12-169)
Kawa parzona	250 ml	80 (40-110)
Napoje energetyzujące	250 ml	80 (67-83)
Herbata	250 ml	27 (9-51)
Gorzka czekolada	60 g	30 (10-50)

Objaśnienia: Opracowanie własne na podstawie danych EFSA 2015 oraz danych Instytutu Żywności i Żywienia (Wierzejewska 2012)

Przykładowo tauryna w połączeniu z kofeiną (często stosowane połączenie w napojach energetyzujących) pozytywnie wpływa na znoszenie efektów deprawacji snu, jednak badanie na ten temat zostało przeprowadzone na myszach, w związku z czym nie należy go przekładać bezpośrednio na ludzi (Lin in 2010). Herbata zawiera szereg związków będących modulatorami snu, takich jak teina, kofeina, kwas gamma-aminomasłowy (GABA) czy polifenole. Równoczesne spożywanie teiny oraz kwasu gamma-aminomasłowego może prowadzić do wydłużenia snu oraz skrócenia czasu zasypiania (Kim i in. 2019). Niektóre badania sugerują negatywny wpływ wysokiego spożycia cukrów w diecie na ilość oraz jakość snu. Cukry proste często stosowane są jako dodatek do napojów energetyzujących oraz przekąsek, które również mogą zawierać kofeinę (Watson i in. 2017).

Celem przeprowadzonego badania było zbadanie wpływu spożycia kofeiny z różnych źródeł na ilość oraz jakość snu osób dorosłych.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Grupa badawcza

W badaniu udział wzięły 192 osoby, 159 kobiet (82,8%) oraz 33 mężczyzn (17,2%). Ankietyowanych podzielono na następujące grupy wiekowe: 18-10 lat – 12 osób (6,3%), 21-25 lat – 74 osób (38,5%), 26-30 lat – 31 osób (16,1%), 31-40 lat – 33 osób (17,2%), 41-50 lat – 21 osób (10,9%), 51-60 lat – 15 osób (7,8%) oraz powyżej 60 roku życia – 6 osób (3,1%). Sześćdziesięcioro badanych (31,3%) było mieszkańcami obszarów wiejskich, sześćdziesięcioro czworo uczestników badania (33,3%) mieszkało w mieście do 50 tysięcy mieszkańców. Mieszkańcy miasta liczącego od 50 do 150 tysięcy mieszkańców stanowili około 10 procent badanych (19 osób), a miasta liczącego od 150 do 500 tysięcy mieszkańców około 11% badanych (20 osób). Miasto powyżej 500 tysięcy mieszkańców zamieszkiwało 29 uczestników badania (około 15%).

Uczestników badania poproszono również o scharakteryzowanie swojej aktywności fizycznej w ciągu dnia. Na podstawie udzielonych odpowiedzi przydzielono ich do następu-

jących grup: osoby o małej aktywności fizycznej (praca siedząca, brak spontanicznej lub zaplanowanej aktywności fizycznej) – 45 osób (23,4%), osoby o umiarkowanej aktywności fizycznej (praca siedząca lub z niewielką ilością ruchu, udział w spontanicznej lub zaplanowanej aktywności fizycznej w ciągu dnia) – 113 osób (58,9%) oraz osoby o wysokiej aktywności fizycznej (praca fizyczna, duży udział spontanicznej lub zaplanowanej aktywności fizycznej w ciągu dnia) - 34 osoby (17,7%).

## 2.2. Metody

Badanie przeprowadzono przy użyciu autorskiego, samowrotnego formularza online. Zadaniem osób badanych było określenie z jaką częstotliwością (kilka razy dziennie, raz dziennie, kilka razy w tygodniu, raz w tygodniu, nigdy lub prawie nigdy) spożywają produkty spożywcze zawierające kofeinę (kawa z ekspresu, kawa parzona, kawa rozpuszczalna, kawa zbożowa, herbata czarna, herbata zielona, napoje energetyzujące, suplementy diety zawierające kofeinę, batony z dodatkiem kofeiny oraz przekąski zawierające czekoladę). W pytaniach dotyczących częstotliwości spożycia możliwe odpowiedzi przeliczono na dzienne spożycie (razy/dzień): nigdy lub prawie nigdy, raz w tygodniu, kilka razy w tygodniu, raz dziennie, kilka razy dziennie. Na potrzeby przeprowadzonych analiz statystycznych, na podstawie udzielonych odpowiedzi, badanych podzielono na grupy w zależności od źródła przyjmowanej kofeiny. W przypadku, gdy ankietowana osoba spożywała kofeinę z kilku źródeł z tą samą częstotliwością wybierano produkt o najwyższej zawartości kofeiny. Jeśli dana osoba badana spożywała kilka produktów z taką samą częstotliwością przydzielano ją do grupy odpowiadającej produktowi o największej zawartości kofeiny.

Kolejne pytania kwestionariusza dotyczyły odczuwanego w ciągu dnia zmęczenia, problemów ze wstawaniem, pobudzenia oraz poziomu wyspania chwilę po obudzeniu rano. Badania oceniali wymienione aspekty w skali od 1 do 5. Zapytano również o częstotliwość opóźnienia czasu zasypiania (jak często zaśnięcie zajmują Ci więcej niż 30 minut?), problemów z obudzeniem się rano o wyznaczonej porze, wybudzania się w trakcie snu oraz drzemek w ciągu dnia. Uczestnicy badania zostali również zapytani o przeciętny odstęp czasu pomiędzy przyjęciem ostatniej dawki kofeiny z różnych źródeł w ciągu dnia, a pójściem spać. Dwa ostatnie pytania kwestionariusza dotyczyły przeciętnej długości snu badanych oraz zachowywania przez badanych stałych pór budzenia się oraz chodzenia spać.

Do analiz statystycznych wykorzystano program Statistica (StatSoft). Normalność rozkładu oceniono testem Shapiro-Wilka. Zmienne posiadały rozkład różny od normalnego. Zmienne ciągłe opisano za pomocą średniej oraz odchylenia standardowego, a zmienne katégoryczne przedstawiono jako liczbę i procent. Do analizy różnicy między grupami zmiennych ciągłych użyto testu Kruskala-Wallisa oraz przekroje proste ANOVA. Różnice zmiennych katégorycznych oceniono testem  $\chi^2$  Pearsona. Istotność wyznaczono na poziomie  $p < 0,05$ .

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Średnie spożycie kofeiny

Na podstawie udzielonych przez uczestników odpowiedzi wyliczono średnie spożycie poszczególnych produktów spożywczych zawierających kofeinę, w przeliczeniu na dzienną częstotliwość spożycia (razy/dzień).

Produktem charakteryzującym się najwyższą średnią częstością spożycia była herbata czarna (0,62 razy na dzień), a najniższą średnią częstością spożycia charakteryzowały się batony z dodatkiem kofeiny – (0,04 raza/dzień). Podane wartości (tab. 3) zostały wyznaczone dla ogółu badanych.

**Tabela 3.** Średnia częstotliwość spożycia produktów spożywczych zawierających kofeinę wśród ogółu badanych

Produkt	Częstotliwość spożycia (razy/dzień)
Herbata czarna	0,62 ± 0,73
Kawa rozpuszczalna	0,55 ± 0,71
Kawa z ekspresu	0,52 ± 0,75
Przekąski zawierające czekoladę	0,51 ± 0,54
Kawa parzona	0,42 ± 0,65
Herbata zielona	0,38 ± 0,60
Napoje energetyzujące	0,18 ± 0,39
Kawa zbożowa	0,10 ± 0,28
Suplementy diety zawierające kofeinę	0,08 ± 0,28
Batony z dodatkiem kofeiny	0,04 ± 0,15

Objaśnienia: Wartości podano jako średnią oraz odchylenie standardowe

Następnie dokonano analizy częstotliwości spożycia produktów spożywczych zawierających kofeinę, uwzględniając grupy wiekowe ankietowanych (tab. 4).

Największą częstotliwością spożycia w grupie wiekowej 18-20 lat charakteryzowała się kawa rozpuszczalna – 0,58 razy/dzień (SD 0,63), w grupie wiekowej 21-25 lat – herbata czarna – 0,58 razy na dzień (SD 0,71), w grupie 26-30 lat była to kawa parzona – 0,61 razy na dzień (SD 0,78). W grupach wiekowych 31-40 lat oraz 41-50 lat średnio najczęściej spożywano kawę z ekspresu, odpowiednio 0,83 razy na dzień (SD 0,94) oraz 0,75 razy na dzień (SD 0,88). W grupie wiekowej 51-60 lat największą częstotliwością spożycia charakteryzowała się herbata czarna – 0,89 razy na dzień (SD 0,69), a u osób powyżej 60 roku życia herbata zielona – 1,09 razy na dzień (SD 1,01). Różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami zaobserwowano w przypadku kawy parzonej ( $p = 0,06$ ), kawy zbożowej ( $p = 0,02$ ) oraz napojów energetyzujących ( $p = 0,00$ ).

**Tabela 4.** Średnia częstość spożycia produktów spożywczych zawierających kofeinę w zależności od grupy wiekowej

Produkt spożywczy	Grupa wiekowa							p
	18-20 lat	21-25 lat	26-30 lat	31-40 lat	41-50 lat	51-60 lat	>60 lat	
Kawa z ekspresu	0,30 ± 0,61	0,40 ± 0,64	0,37 ± 0,62	0,83 ± 0,94	0,75 ± 0,88	0,55 ± 0,82	0,61 ± 0,77	0,44
Kawa parzona	0,21 ± 0,39	0,28 ± 0,54	0,61 ± 0,78	0,53 ± 0,73	0,41 ± 0,73	0,69 ± 0,70	0,19 ± 0,40	0,06
Kawa rozpuszczalna	0,58 ± 0,63	0,48 ± 0,72	0,59 ± 0,76	0,52 ± 0,71	0,62 ± 0,74	0,65 ± 0,70	0,73 ± 0,77	0,82
Kawa zbożowa	0,14 ± 0,30	0,04 ± 0,14	0,07 ± 0,15	0,14 ± 0,39	0,28 ± 0,50	0,07 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,02
Herbata czarna	0,53 ± 0,61	0,58 ± 0,71	0,42 ± 0,58	0,62 ± 0,77	0,86 ± 0,95	0,89 ± 0,69	0,80 ± 0,94	0,54
Herbata zielona	0,34 ± 0,60	0,33 ± 0,53	0,23 ± 0,40	0,40 ± 0,59	0,58 ± 0,77	0,40 ± 0,71	1,09 ± 1,01	0,37
Napoje energetyzujące	0,52 ± 0,75	0,26 ± 0,46	0,13 ± 0,17	0,11 ± 0,26	0,07 ± 0,23	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
Suplementy diety zawierające kofeinę	0,26 ± 0,62	0,07 ± 0,28	0,06 ± 0,14	0,07 ± 0,20	0,12 ± 0,31	0,01 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0,67
Batony z dodatkiem kofeiny	0,13 ± 0,30	0,02 ± 0,07	0,03 ± 0,10	0,07 ± 0,20	0,07 ± 0,23	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,31
Przekąski czekoladowe	0,67 ± 0,65	0,48 ± 0,51	0,55 ± 0,49	0,44 ± 0,52	0,55 ± 0,59	0,48 ± 0,55	0,89 ± 0,87	0,41

W 2022 roku opublikowano wyniki badań dotyczących oceny spożycia kofeiny w grupie młodych kobiet (Wierzbička i Momot 2022). Uczestniczki badania podzielono na dwie grupy wiekowe 18-24 lata oraz 25-30 lat. Głównymi źródłami kofeiny w diecie kobiet należących do młodszej grupy wiekowej były czarna herbata oraz kawa rozpuszczalna, natomiast w starszej grupie największym odsetkiem charakteryzowały się kawa rozpuszczalna oraz kawa mielona. W badaniach z 2013 roku wykazano, że spożycie kofeiny wraz z kawą oraz herbatą rosło wraz z wiekiem, aż do osiągnięcia 35-50 lat (Lachenmeier i in. 2013). Badacze stwierdzili, że spożycie kofeiny we wszystkich grupach wiekowych nie budziło niepokoju, jednak szczególnie uważne powinny być kobiety w okresie koncepcyjnym oraz w ciąży (Błaszczuk-Bębenek i in. 2018).

### 3.2. Subiektywna ocena długości i jakości snu

Badanych poproszono o ocenę – w skali od 1 do 5 – parametrów takich jak: przeciętny poziom zmęczenia, zaspania oraz pobudzenia odczuwanego w ciągu dnia. Również w tej skali badani mieli za zadanie ocenić poziom wyspania odczuwany rano po obudzeniu. Wartości deklarowane przez ankietowanych przedstawiono w tabeli 5. Największą wartość zaobserwowano dla oceny zmęczenia odczuwanego w ciągu dnia – 3,32, a najniższą dla oceny pobudzenia odczuwanego w ciągu dnia – 2,64.

**Tabela 5.** Średnie wartości odczuwanego zmęczenia, zaspania, pobudzenia oraz wyspania dla ogółu grupy badanej

Pytanie	Średnia ocena
Jaki stopień zmęczenia odczuwasz w ciągu dnia?	3,32 ± 0,93
Jaki stopień zaspania odczuwasz w ciągu dnia?	2,77 ± 1,12
Jaki stopień pobudzenia odczuwasz w ciągu dnia?	2,64 ± 0,92
Oceń swój poziom wyspania po obudzeniu rano	2,88 ± 1,03

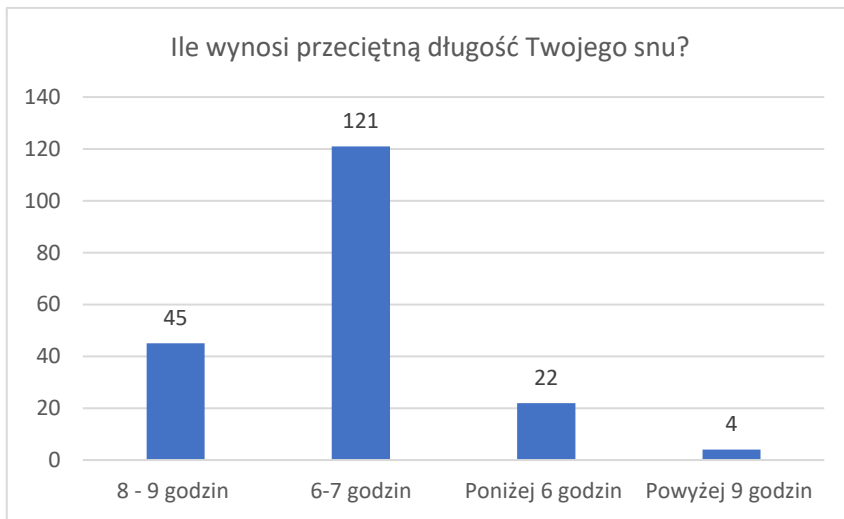
Badanych poproszono również o ocenę częstotliwości występowania następujących zdarzeń: zasypianie zajmujące więcej niż 30 minut, problemów z budzeniem się o wyznaczonej porze, wybudzanie się w trakcie snu, drzemka w ciągu dnia. U największego odsetka osób – 37,5% - zaśnięcie zajmujące więcej niż 30 minut nigdy lub prawie nigdy nie występowało. Po 44 (22,9%) osoby udzieliły odpowiedzi „codziennie” oraz „kilka razy w tygodniu” na pytanie dotyczące częstości występowania trudności z obudzeniem się rano o wyznaczonej porze. 56 badanych deklarowało występowanie kilka razy w tygodniu wybudzania się w trakcie snu, a 72 badanych nigdy lub prawie nigdy nie drzemie w ciągu dnia (tab. 6).

Osoby biorące udział w badaniu poproszono również o określenie średniej długości snu (rys. 1) oraz odstępu, w jakim przyjmują ostatnią dawkę kofeiny w ciągu dnia a snem (rys. 2). Największa ilość badanych spała od 6 do 7 godzin – 121 osób (63%), a najmniejsza powyżej 9 godzin w ciągu dnia – 4 osoby (2%).

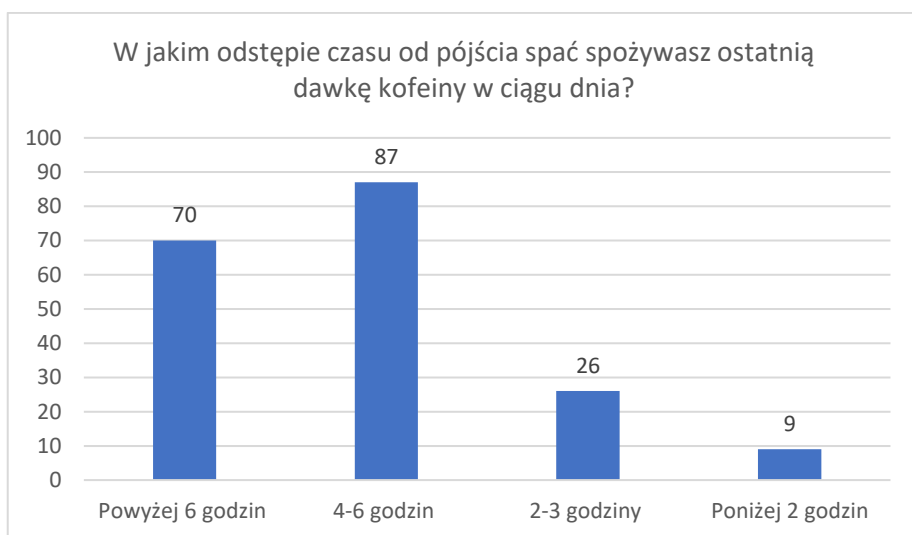
Najwięcej badanych, bo 87 osób (45,3%) spożywało ostatnią dawkę kofeiny w odstępie od 4 do 6 godzin od pójścia spać, a najmniej, 9 osób (4,7%), poniżej 2 godzin przed pójściem spać.

**Tabela 6.** Częstotliwość występowania zdarzeń mających wpływ na jakość i ilość snu wśród ankietowanych osób

Pytanie	Kategorie odpowiedzi				
	Codziennie	Kilka razy w tygodniu	Raz w tygodniu	1 – 3 razy w miesiącu	Nigdy lub prawie nigdy
Jak często zaśnięcie zajmuje Ci więcej niż 30 minut?	26 (13,5%)	43 (22,4%)	51 (26,6%)	0 (0,0%)	72 (37,5%)
Jak często masz problemy z obudzeniem się rano o wyznaczonej porze?	44 (22,9%)	44 (22,9%)	27 (14,1%)	32 (16,7%)	45 (23,4%)
Jak często wybudzasz się w trakcie snu?	29 (15,1%)	56 (29,2%)	23 (11,9%)	43 (22,4%)	41 (21,4%)
Jak często drzemiesz w ciągu dnia?	11 (5,7%)	37 (19,3%)	29 (15,1%)	43 (22,4%)	72 (37,5%)



**Rysunek 1.** Wykres przeciętnej długości snu ogółu badanych (wartości podano jako liczba osób)



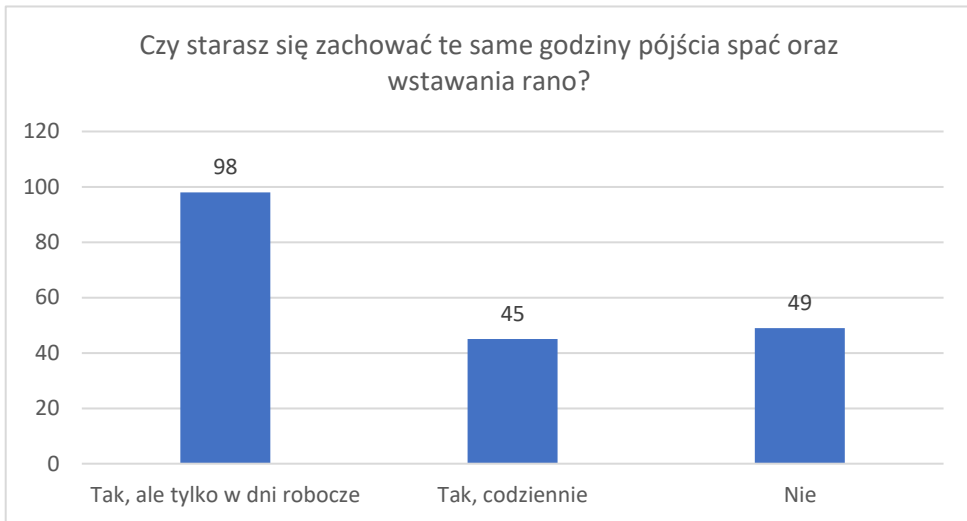
**Rysunek 2.** Wykres odstępu pomiędzy przyjęciem kofeiny a pójściem spać ogółu badanych (wartości podano jako liczba osób)

Ostatnie pytanie dotyczyło zachowywania stałych pór budzenia się oraz chodzenia spać przez badanych. Zdecydowana większość osób biorących udział w badaniu zachowywała stałe pory snu oraz pobudki tylko w dni robocze – 98 osób (51%), 49 badanych w ogóle nie zachowywało stałych pór snu i pobudek (25,5%). Najmniej badanych, bo 45 osób – 23,5%, starało się codziennie chodzić spać i budzić się o stałej porze (rys. 3).

Uzyskane wyniki subiektywnej oceny ilości i jakości snu mogą wskazywać, że osoby biorące udział w badaniu charakteryzują się w większości krótkim snem o niskiej jakości, na co wskazują wysokie oceny odczuwanego zmęczenia oraz zaspania w ciągu dnia. Osoby badane wybudzają się w trakcie snu oraz część z nich przyjmuje kofeinę w krótkim odstępie czasu od pójścia spać. Rekomendacje dla ogółu populacji wskazują na konieczność zaprzestania przyjmowania kofeiny z różnych źródeł na co najmniej 6 godzin przed pójściem spać w celu uniknięcia pogorszenia jakości oraz ogólnego skrócenia ilości snu (Drake i in. 2013). W badaniu z 2019 roku wykazano, że populacja ludzi dorosłych żyjących w Campinas, mieście w południowo-wschodniej Brazylii, charakteryzuje się snem o niskiej jakości (Barros i in. 2019). Dotyczyło to szczególnie osób w wieku od 40 do 59 lat, migrantów oraz osób bezrobotnych. Autorzy badania wskazują na pozytywną korelację między jakością snu a występowaniem chorób przewlekłych. Równocześnie osoby o niższej jakości snu charakteryzowały się niższą satysfakcją z życia. Z danych projektu badawczego MONICA przeprowadzonego w 2014 roku wynika, że zmęczenie odczuwane w ciągu dnia skorelowane było z poziomem wykształcenia, płcią oraz wiekiem. Równocześnie lepszy stan zdrowia, oceniony subiektywnie, wiąże się z niższą oceną odczuwanego zmęczenia (Engberg i in. 2017). W projekcie tym wykazano, że starsi, dobrze wyedukowani mężczyźni o umiarkowanej aktywności fizycznej deklarowali najmniejszy stopień odczuwanego zmęczenia. Mimo zainteresowania badaczy tematem jakości snu, istnieje wciąż mało opublikowanych



prac badawczych skupiających się na wielu aspektach jakości snu, brak również odpowiedniego, walidowanego narzędzia badawczego. Równocześnie odczuwanie zmęczenia, zaspania czy pobudzenia zarówno psychicznego, jak i fizycznego jest tematem bardzo złożonym. W oryginalnych pracach badawczych częściej można spotkać się z oceną wprowadzenia nawyków sprzyjających poprawie jakości snu (Barros i in. 2019). Ocenę wpływu spożycia kofeiny na jakość snu w niektórych pracach badawczych określa się za pomocą elektroencefalografii (EEG) (Clark i Landolt 2017).



**Rysunek 3.** Wykres zachowania stałych godzin pójścia spać oraz wstawania rano ogółu badanych (wartości podano jako liczby badanych).

### 3.3. Zależność między rodzajem spożywanego produktu zawierającego kofeinę z subiektywną oceną długości i jakości snu

W celu oceny wpływu rodzaju spożywanej grupy produktów zawierających kofeinę na ilość i jakość snu ankietowanych podzielono na grupy, w zależności od rodzaju produktu spożywanego z największą częstotliwością. Po podziale, w grupie spożywającej kawę z ekspresu znalazło się 48 osób (25% ogółu badanych), kawę parzoną – 38 (19,79%), kawę rozpuszczalną – 42 (21,88%), kawę zbożową – 1 (0,52%), herbatę czarną – 29 (15,1%), herbatę zieloną – 5 (2,6%), napoje energetyzujące – 14 (7,29%), suplementy diety zawierające kofeinę – 3 (1,56%), przekąski zawierające czekoladę – 12 (6,25%). Żadna osoba nie deklarowała spożywania batonów z dodatkiem kofeiny z największą częstotliwością.

Na podstawie deklaracji ankietowanych można zauważyć, że średnia oceny odczuwanego zmęczenia była najwyższa w grupie, której główne źródło kofeiny w diecie stanowiły suplementy diety zawierające kofeinę – 4,67 (SD 0,58), a najniższa w grupie spożywającej zieloną herbatę – 2,80 (SD 1,10). Największy problem z zaspaniem odczuwała grupa spożywająca kawę rozpuszczalną – 2,90 (SD 0,96), a najniższy spożywająca suplementy zawierające kofeinę – 1,67 (SD 1,15). Największe pobudzenie w ciągu dnia odczuwała grupa spożywająca przekąski z dodatkiem czekolady – 3,00 (SD 0,74), a najniższe grupa spożywająca zieloną herbatę – 2,40 (SD 0,89). Ostatnim porównywanym parametrem był stopień wyspania odczuwany po obudzeniu rano. Najwyższym stopniem wyspania charakteryzowała się grupa spożywająca suplementy zawierające kofeinę – 3,33 (SD 0,58), a najniższym grupa spożywająca kawę rozpuszczalną – 2,83 (SD 0,99). Ze względu na niską liczbę do porównań między grupami nie wzięto pod uwagę grupy spożywającej kawę zbożową (tab. 7).

Wyniki badania z 2021 roku sugerują, że ogólne spożycie kofeiny ma wpływ na poziom odczuwanego zmęczenia, zarówno psychicznego, jak i fizycznego (Fuller i in. 2021). Badacze podkreślają, że polimorfizm genowy ma duży wpływ na działanie kofeiny w organizmie człowieka, co przekłada się w następstwie na rozwój funkcji poznawczych czy nastrój badanych. Kolejne badanie zwraca uwagę na powszechność spożywania produktów zawierających kofeinę, głównie kawy, nawet przez osoby poniżej 18 roku życia (Rodak i in. 2021). Pomimo faktu, że osoby spożywające kawę charakteryzują się lepszym zdrowiem oraz mniejszym ryzykiem przedwczesnej śmierci ważna jest przyjmowana jej dawka (Chen i in. 2022). Warto podkreślić, że wpływ kofeiny na organizm może również zależeć od jej źródła. Przykładowo spożywanie takiej samej dawki kofeiny pod postacią kawy oraz napojów energetyzujących może prowadzić do odmiennego wpływu na ciśnienie tętnicze ze względu na obecność innych składników zawartych w obu napojach (Schuttler i in. 2022). Badania na temat wpływu napojów takich jak herbata czy kawa na sen skupiają się na pojedynczych ich składnikach np. teinie i kwasie gamma-aminomasłowym, które w połączeniu mogą wywierać pozytywny wpływ na sen człowieka (Kim i in. 2019). W badaniach tych nie brano jednak pod uwagę pozostałych składników napojów. Podobnie, w przypadku napojów energetyzujących, których częstym składnikiem jest tauryna mająca

pozytywny wpływ na sen, nie prowadzono badań nad wpływem tauryny i innych składników na ten proces fizjologiczny (Lin i in. 2010). Badania naukowe równocześnie sugerują, że istotny wpływ na ilość oraz jakość snu może wywierać wprowadzenie regularnej, umiarkowanej aktywności fizycznej, w miejsce siedzącego trybu życia (Kredlow i in. 2015), a także ograniczenie ekspozycji na światło niebieskie w godzinach wieczornych, które może wpływać na wydzielanie melatoniny w szyszynce człowieka (Mikulska i in. 2023). Duże znaczenie ma również diagnozowanie oraz leczenie chorób przewlekłych, przykładowo bezdechu sennego, który w znaczący sposób negatywnie wpływa na jakość snu osób chorych oraz ma również związek z nadwagą i otyłością (Ong i in. 2021). Pamiętać należy, że długość i jakość snu ma bezpośrednie przełożenie na funkcje poznawcze, możliwości wysiłkowe organizmu oraz ogólne samopoczucie (Triantafyllou i in. 2019).

**Tabela 7.** Ocena średniego poziomu zmęczenia, zaspania, pobudzenia odczuwanego w ciągu dnia oraz poziomu wyspania w zależności od grupy produktów spożywczych stanowiących główne źródło kofeiny w diecie

Pytanie	Ogół badanych	Grupa ankietowanych spożywających dany rodzaj żywności					p
		A	B	C	D	E	
	n = 192	n = 48	n = 38	n = 42	n = 1	n = 29	
1	3,32 ± 0,93	3,27 ± 0,96	3,32 ± 1,02	3,31 ± 0,92	4,00	3,14 ± 0,83	0,103
2	2,77 ± 1,12	2,63 ± 1,12	2,76 ± 1,20	2,90 ± 0,96	4,00	2,59 ± 1,15	0,148
3	2,64 ± 0,92	2,71 ± 0,97	2,45 ± 1,08	2,67 ± 0,87	3,00	2,72 ± 0,88	0,697
4	2,88 ± 1,03	2,90 ± 0,99	2,89 ± 1,09	2,83 ± 0,99	2,00	3,00 ± 1,20	0,418

Pytanie	Ogół badanych	Grupa ankietowanych spożywających dany rodzaj żywności				p
		F	G	H	I	
	n = 192	n = 5	n = 14	n = 3	n = 12	
1	3,32 ± 0,93	2,80 ± 1,10	3,79 ± 0,70	4,67 ± 0,58	3,25 ± 0,62	0,103
2	2,77 ± 1,12	2,80 ± 1,10	3,50 ± 1,09	1,67 ± 1,15	2,67 ± 1,07	0,148
3	2,64 ± 0,92	2,40 ± 0,89	2,36 ± 0,74	2,67 ± 0,58	3,00 ± 0,74	0,697
4	2,88 ± 1,03	3,20 ± 1,48	2,36 ± 0,50	3,33 ± 0,58	3,17 ± 1,03	0,418

Objaśnienia: 1 – Jaki stopień zmęczenia odczuwasz w ciągu dnia? 2 – Jaki stopień zaspania odczuwasz w ciągu dnia? 3 – Jaki stopień pobudzenia odczuwasz w ciągu dnia? 4 – Oceń swój stopień wyspania po obudzeniu rano; A – kawa z ekspresu, B – kawa parzona, C – kawa rozpuszczalna, D – kawa zbożowa, E – herbata czarna, F – herbata zielona, G – napoje energetyzujące, H – suplementy diety zawierające kofeinę, I – przekąski zawierające czekoladę; wartości podano jako średnią i odchylenie standardowe; p < 0,05 – zmienne istotne statystycznie, n – licznosc grupy

#### 4. Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych ankiet można zaobserwować niewielki wpływ rodzaju spożywanego produktu zawierającego kofeinę, a subiektywną oceną długości i jakości snu. Ankietowani deklarowali z reguły niską jakość snu, co przełożyło się na wysoki poziom odczuwanego przez nich zmęczenia i większą częstotliwość zaspania w ciągu dnia, a także niski poziom odczuwanego pobudzenia oraz niską ocenę wyspania zaraz po

przebudzeniu. Biorąc pod uwagę ocenianie odpowiedzi, można stwierdzić, że na niski poziom jakości snu badanych osób miało wpływ nie samo spożycie produktów zawierających kofeinę, ale ogół czynników, takich jak długość snu, która u wielu osób była krótsza niż zalecana dla danej grupy wiekowej. W celu kompletnej oceny wpływu poszczególnych produktów spożywczych na ilość i jakość snu należałoby badanych objąć interwencją polegającą na wprowadzeniu określonych ilości każdego z produktów do diety, z równoczesnym wprowadzeniem wystandaryzowanej diety oraz aktywności fizycznej w celu uniknięcia wpływu czynników żywieniowych oraz nadmiernej aktywności fizycznej na parametry snu.

### Literatura

1. American Academy of Sleep Medicine (2020). Healthy Sleep Habits.
2. Akova I., Duman E. N., Sahar A. E., Sümer E. H. (2023). The relationship between caffeine consumption and depression, anxiety, stress level and sleep quality in medical students. *Journal of Turkish Sleep Medicine* 10, 65-70.
3. Atoui S., Chevance G., Romain A. J., Kingsbury C., Lachance J. P., Bernard P. (2021). Daily associations between sleep and physical activity: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 57, 101426.
4. Barros M. B. A., Lima M. G., Ceolim M. F., Zancanella E., Cardoso T. A. M. (2019). Quality of sleep, health and well-being in a population-based study. *Revista De Saúde Pública*, 53, 82.
5. Błaszczyk-Bębenek E., Piórecka B., Kopytko M., Chadzińska Z., Jagielski P., Schlegel-Zawadzka M. (2018). Evaluation of caffeine consumption among pregnant women from southern Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 2373.
6. Charest J., Grandner M. A. (2020). Sleep and Athletic Performance: Impacts on physical performance, mental performance, injury risk and recovery, and mental health. *Sleep Medicine Clinics*, 15(1), 41-57.
7. Chen Y., Zhang Y., Zhang M., Yang H., Wang Y. (2022) Consumption of coffee and tea with all-cause and cause-specific mortality: a prospective cohort study. *BMC Medicine* 20, 449.
8. Clark I., Landolt H. P. (2017). Coffee, caffeine, and sleep: a systematic review of epidemiological studies and randomized controlled trials. *Sleep Medicine Reviews*, 30, 70-78.
9. Drake C., Roehrs T., Shambroom J., Roth T. (2013). Caffeine effects on sleep taken 0, 3, or 6 hours before going to bed. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 9(11), 1195-1200.
10. Dzierzewski J. M., Dautovich N., Ravyts S. (2018). Sleep and cognition in older adults. *Sleep Medicine Clinics*, 13(1), 93-106.
11. EFSA (2015). European Food Safety Authority. Caffeine.
12. Engberg I., Segerstedt J., Waller G., Wennberg P., Eliasson M. (2017). Fatigue in the general population- associations to age, sex, socioeconomic status, physical activity,

- sitting time and self-rated health: The Northern Sweden MONICA study 2014. *BMC Public Health*, 7(1), 654.
13. Fuller D. T., Smith M. L., Boolani A. (2021) trait energy and fatigue modify the effects of caffeine on mood, cognitive and fine-motor task performance: a post-hoc study. *Nutrients*, 13(2), 412.
14. Hirshkowitz M., Whiton K., Albert S. M., Alessi C., Bruni O., DonCarlos L., Hazen N., Herman J., Katz E. S., Kheirandish-Gozal L., Neubauer D.N., O'Donnell A. E., Ohayon M., Peever J., Rawding R., Sachdeva R. C., Setters B., Vitiello M. V., Ware J. C., Adams Hillard P. J. (2015). National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep Health*, 1(1), 40-43.
15. <https://www.gov.pl/web/psse-wloclawek/napoje-energetyczne-moga-byc-szkodliwe-dla-zdrowia> (dostęp 03.11.2023 r.).
16. Kim S., Jo K., Hong K. B., Han S. H., Suh H. J. (2019). GABA and L-theanine mixture decreases sleep latency and improves NREM sleep. *Pharmaceutical Biology*, 57(1), 65-73.
17. Kredlow M. A., Capozzoli M. C., Hearon B. A., Calkins A. W., Otto M. W. (2015). The effects of physical activity on sleep: a meta-analytical review. *Journal of Behavioral Medicine*, 38(3), 427-449.
18. Lachenmeier D. W., Wegert K., Kuballa T., Schneider R., Ruge W., Reusch H., Alexy U., Kersting M., Winkler G. (2013). Caffeine intake from beverages in German children, adolescents, and adults. *Journal of Caffeine Research*, 3(1), 47-53.
19. Lin F., Pierce M., Sehgal A., Wu T., Skipper D., Chabba R. (2010). Effect of taurine and caffeine on sleep-wake activity in *Drosophila melanogaster*. *Nature and Science of Sleep*, 2, 221-31.
20. Litwiller B., Snyder L., Taylor W., Steele L. (2016). The relationship between sleep and work: a meta-analysis. *Journal of Applied Psychology*, 102(4), 682.
21. Mason G. M., Lokhandwala S., Riggins T., Spencer R. M. C. (2021). Sleep and human cognitive development. *Sleep Medicine Reviews*, 57, 101472.
22. Matricciani L., Paquet C., Galland B., Shot M., Olds T. (2019). Children's sleep and health: a meta-review. *Sleep Medicine Reviews*, 46, 136-150.
23. Mikulska J., Skoczylas K., Rokicki S., Schok K. (2023). How blue light affect sleep. *Journal of Education Health and Sport*, 37(1), 74-79.
24. Ogilvie R. P., Patel S. R. (2017). The epidemiology of sleep and obesity. *Sleep Health*, 3(5), 383-388.
25. Ong J. C., Crawford M. R., Wallace D. M. (2021). Sleep apnea and insomnia: emerging evidence for effective clinical management. *Chest*, 159(5), 2020-2028.
26. Papatriantafyllou E., Efthymiou D., Zoumbaneas E., Popescu C. A., Vassilopoulou E. (2022). Sleep deprivation: effects on weight loss and weight loss maintenance. *Nutrients*, 14(8), 1549.

27. Reichert C. F., Deboer T., Landolt H. P. (2022). Adenosine, caffeine, and sleep-wake regulation: state of the science and perspectives. *Journal of Sleep Research*, 31(4), e13597.
28. Rodak K., Kokot I., Kratz E. M. (2021). Caffeine as a factor influencing the functioning of the human body-friend or foe? *Nutrients*, 2, 13(9), 3088.
29. Schüttler D., Rudi W. S., Bauer A., Hamm W., Brunner S. (2022). Impact of energy drink versus coffee consumption on periodic repolarization dynamics: an interventional study. *European Journal of Nutrition*, 61(5), 2847-2851.
30. Triantafyllou S., Saeb S., Lattie E. G., Mohr D. C., Kording K. P. (2019). Relationship between sleep quality and mood: ecological momentary assessment study. *JMIR Mental Health*, 6(3), e12613.
31. Vitale K. C., Owens R., Hopkins S. R., Malhotra A. (2019). Sleep hygiene for optimizing recovery in athletes: review and recommendations. *International Journal of Sports Medicine*, 40(8), 535-543.
32. Wang Z., Heizhati M., Wang L., Li M., Yang Z., Lin M., Abudereyimu R., Hong J., Yang W., Yao L., Liu S., Hu J., Li N. (2022). Poor sleep quality is negatively associated with low cognitive performance in general population independent of self-reported sleep disordered breathing. *BMC Public Health*, 22, 1-9.
33. Watson E. J., Coates A. M., Banks S., Kohler M. (2017). Total dietary sugar consumption does not influence sleep or behaviour in Australian children. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69(4), 503-512.
34. Wierzbicka E., Momot J. (2022). Assessment of caffeine intake from food and beverage sources among young women. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1, 113-121.
35. Wierzejewska R. (2012). Kofeina – powszechny składnik diety i jej wpływ na zdrowie. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 63(2), 141- 147.

### **Study of the subjective impact of caffeine consumption from various sources on the quantity and quality of sleep**

#### **Abstract**

Food sources of caffeine include coffee, tea, dark chocolate and energy drinks; this ingredient can also be found in dietary supplements. The effect of taking caffeine may vary depending on its source, including the content of other bioactive compounds in the sources mentioned. Their common occurrence may enhance or eliminate the effect of caffeine. One of the adverse effects of consuming caffeine is its possible negative impact on sleep, both quantity and quality. The subjective impact of caffeine consumption from various sources on the quantity and quality of sleep was examined using an original, self-reported online questionnaire. The questionnaire included questions about the frequency of consumption of caffeine sources and, in the second part, questions about, among other

things, feeling tired during the day and immediately after waking up. They were also asked about difficulties in falling asleep and waking up at a specific time. The aim of the study was to link the degree of feeling agitated, be sleepy and tired during the day with the main source of caffeine consumed by the subjects. 192 respondents took part in the study. Based on the answers provided, they were divided into groups depending on the source of caffeine consumed most often by a given subject; if the subject consumed several sources of caffeine with the same frequency, the source with the highest caffeine content was selected. The average degree of tiredness experienced during the day by all respondents was rated at 3.32, oversleeping – 2.77, and arousal – 2.64. The highest average degree of tiredness felt during the day was observed in the group that most often consumed dietary supplements containing caffeine – 4.67 on a scale from 1 to 5. The highest average degree of oversleep was felt in the group that most often consumed energy drinks – 3.50.

## Charakterystyka i sposoby łagodzenia objawów w zespole jelita nadwrażliwego

Joanna Kapusta-Duch\*, Karolina Dereń, Barbara Borczak, Anna Mroczkowska

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

\*Autor korespondencyjny: joanna.kapusta-duch@urk.edu.pl

### Streszczenie

Zespół jelita nadwrażliwego (IBS) jest przewlekłą chorobą przewodu pokarmowego, o wieloczynnikowej etiologii, która dotyka 1,1-45% populacji na całym świecie. Objawia się m.in. zaburzeniami rytmu wypróżnień i bólami brzucha. Udowodnione jest, że objawy choroby nie są związane ze zmianami organicznymi, bądź biochemicznymi, które można wykryć w badaniach diagnostycznych. IBS w znaczącym stopniu obniża jakość życia oraz jest powodem częstych konsultacji u lekarza podstawowej opieki zdrowotnej oraz w poradniach gastroenterologicznych. Obecnie nie jest znany patomechanizm tego zaburzenia. Podejrzewa się udział czynników genetycznych, zaburzeń czynności motorycznej jelit, nadwrażliwości trzewnej, zaburzeń psychicznych, przebytych infekcji jelitowych, zaburzeń mikrobioty jelitowej czy też nietolerancji pokarmowych. Aktualnie rozpoznanie IBS stawiane jest na podstawie Kryteriów Rzymskich IV opartych na zgłaszanych przez pacjenta objawach.

**Słowa kluczowe:** zespół jelita nadwrażliwego, mikrobiota, Kryteria Rzymskie IV, dieta low-FODMAP

### 1. Wprowadzenie

Zespół jelita nadwrażliwego (ang. *irritable bowel syndrome* – IBS) to często nawracająca choroba, która pogarsza jakość życia osób nią dotkniętych. Schorzenie charakteryzuje się zaburzonym funkcjonowaniem przewodu pokarmowego. Do najbardziej charakterystycznych objawów ułatwiających rozpoznanie zespołu jelita nadwrażliwego należą: wczesne uczucie pełności po posiłku, nawracający ból i dyskomfort w jamie brzusznej, uczucie parcia w odbycie, uczucie niepełnego wypróżnienia, zmiana rytmu wypróżnień i/lub konsystencji stolca oraz nadmierne oddawanie gazów. Rozpoznanie oparte jest na dokładnym wywiadzie, badaniu fizykalnym oraz badaniu *per rectum* (Adrych i Rydzewska 2020, Pawlak i in. 2017).

Symptomy spoza układu pokarmowego nie świadczą jednoznacznie o występowaniu schorzenia, jednakże wraz z typowymi ww. objawami sprzyjają nieobecności w pracy czy szkole oraz rezygnacji przez osoby chore z wszelkich spotkań towarzyskich. Do objawów takich należą m.in.: bóle głowy, zawroty głowy, uczucie zmęczenia, bóle mięśni oraz częste oddawanie moczu. Zespół jelita nadwrażliwego stanowi w związku z tym coraz bardziej istotny problem nie tylko zdrowotny, ale też ekonomiczny i społeczny (Cuber i in., 2023).



W zależności od rytmu występowania defekacji i wyglądu stolca, wyróżnić można cztery postacie zespołu jelita drażliwego (Gumiela 2020):

- IBS-C (*ang. Constipation*) – przebiegający z zaparciami;
- IBS-D (*ang. Diarrhoea*) – przebiegający z biegunką;
- IBS-M (*ang. Mix*) – w postaci mieszanej;
- IBS-U (*ang. Unspecified*) – w postaci nieokreślonej.

Schorzenie to dotyka około 20% ludzkości zamieszkującej kraje rozwinięte. Średnia częstość występowania IBS wykazuje znaczne różnice w zależności od poszczególnych kontynentów – 17,5% w Ameryce Łacińskiej, 9,6% w Azji, 7,1% w Ameryce Północnej, Europie, Australii, Nowej Zelandii, 5,8% na Bliskim Wschodzie i w Afryce (Pietrzak i in. 2018). Na podstawie wielu badań odnotowano większe wystąpienie IBS u kobiet niż u mężczyzn, jednakże może to być spowodowane m.in. częstszymi wizytami kobiet u lekarza. Zespół jelita nadwrażliwego dotyka osób każdym wieku, ale najczęściej występuje do 50 r.ż. (Adrych i Rydzewska 2020, Nehring i in. 2011).

Celem pracy jest przedstawienie charakterystyki oraz sposobów łagodzenia objawów w zespole jelita nadwrażliwego.

## 2. Przyczyny powstawania choroby

Przyczyna powstawania tego schorzenia jest złożona i nie do końca wyjaśniona. Wiele czynników składa się na patogenezę zespołu jelita wrażliwego, a do najważniejszych należą: czynniki genetyczne i środowiskowe, psychologiczno-socjalne oraz fizjologiczne, które obejmują m.in. zaburzenia motoryki, nadwrażliwość trzewną i zaburzenia interakcji jelitowo-mózgowej. Istoty wpływ na powstawanie IBS ma sposób żywienia oraz przebyte infekcje (Saha 2014).

Osoby zmagające się z zaburzeniami emocjonalnymi są bardziej podatne na powstanie tego schorzenia. Wykazano, że stres, który prowadzi do zaburzeń emocjonalnych, lęku, depresji i obniżonego nastroju może powodować zaburzenie sprzężenia zwrotnego pomiędzy ośrodkowym układem nerwowym a przewodem pokarmowym. W wyniku chronicznego stresu może dojść do zaburzenia pracy osi podwzgórze-przysadka-nadnercza-jelita, a także do zmiany w składzie i funkcjonowaniu mikrobioty jelitowej. Czynniki psychospołeczne stanowią integralny element biopsychospołecznego modelu patogenezy zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego. Do tych czynników zalicza się: przewlekły stres, doświadczenie przemocy fizycznej lub seksualnej, zaburzenia przystosowawcze. Ponadto u chorych z IBS występują zaburzenia depresyjno-lękowe, somatyzacja i neurotyzm (Pietrzak i in. 2018, Raskov i in. 2016, Soares 2014).

Liczne badania dotyczące wpływu genomu na patogenezę IBS potwierdziły, iż może się ona przyczyniać do rozwoju schorzenia. Badania genetyczne w IBS występującym rodzinie wskazują na zmiany dotyczące polimorfizmu genów związanych z regulacją układu serotoninergicznego. U około 33% pacjentów z IBS ktoś z rodziny zmagał się z tym samym problemem zdrowotnym. Wykazano, że większe prawdopodobieństwo wystąpienia IBS

jest w przypadku, gdy dotyka ono rodziców chorego, niż gdy dotknęło ono jego brata lub siostry (Pietrzak i in. 2018, Radovanovic-Dinic i in. 2018).

Funkcje jelita są regulowane przez sieć neuronalną. Odnotowano dwukierunkowe oddziaływanie między jelitem a ośrodkowym układem nerwowym, stąd też bodźce czuciowe z jelita przesyłane są do mózgu. Najistotniejszym czynnikiem wywołującym schorzenie jest zaburzona interakcja jelitowo-mózgowa, a mianowicie zaburzenia mikrobioty jelitowej. Mikrobiota jelitowa składa się z drobnoustrojów, które bytują w organizmie człowieka i odpowiada ona za utrzymanie homeostazy (Adrych 2019, Dworzański i in. 2018). Zmiany w składzie mikrobioty u chorych z IBS obejmują m.in. zmniejszenie ilości bakterii rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, zwiększenie ilości bakterii rodzaju *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. oraz zmiany proporcji między bakteriami typu Firmicutes a Bacteroidetes, na niekorzyść tych ostatnich (Adrych i Rydzewska 2020, Pietrzak i in. 2018).

Częstość występowania IBS po przebyciu infekcji żołądkowo-jelitowej jest 7-krotnie większa niż bez zakażenia (Pietrzak i in., 2018). Choroba ta może być wywołana przez bakterie (m.in. *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella*), wirusy oraz pasożyty. Według publikacji Kassinen i współautorów (2007), badających skład mikrobioty, bakterie wyizolowane z próbek kału osób z zespołem jelita drażliwego, różnią się znacznie od próbek osób zdrowych. Skład mikrobioty ulega zmianie także w przypadku różnych postaci IBS (Kassinen i in. 2007, Nehring i in. 2011).

### **3. Rola serotoniny i tryptofanu w rozwoju zespołu jelita nadwrażliwego**

Jednym z głównych neurotransmiterów osi mózgowo-jelitowej jest serotonina syntetyzowana w jelitach przez komórki enterochromatofilne (Crowell 2004, Pietrzak 2018). W śluzówce przewodu pokarmowego pacjentów z zespołem jelita nadwrażliwego, poziom serotoniny (5-hydroksytryptaminy, 5-HT) jest znacznie podwyższony. Serotonina odpowiedzialna jest za regulację motoryki jelit i czucie trzewne. Kontroluje także połączenia neuronalne osi mózgowo-jelitowej. Nadwrażliwość trzewna może być wynikiem zaburzonego powstawania, przekazywania i analizy bodźców czuciowych, jak również nieprawidłowej odpowiedzi na te bodźce z osłabieniem centralnych procesów hamowania bólu. Wykazano związek nadwrażliwości zakończeń czuciowych włókien nerwowych w ścianie jelit ze wzmożoną produkcją neurotransmiterów (serotonina, substancja P) oraz z uwalnianiem mediatorów zapalnych z komórek tucznych (Crowell 2004, Pietrzak 2018, Stępień i in. 2014).

Tryptofan (kwas 2-amino-3-indolopropanowy), należący do aminokwasów aromatycznych, nie jest syntetyzowany w organizmie. Jego źródłem są produkty pochodzenia zwierzęcego i roślinnego, takie jak m.in.: ryby, drób, pestki dyni, orzechy i brokuły. Tryptofan ulega wiązaniu z albuminami w surowicy krwi, a następnie jest wydalany wraz z moczem. Zaburzenie homeostazy tryptofanu w wyniku nieprawidłowej diety lub nasilonego stresu, mogą być jedną z przyczyn powstawania zespołu jelita nadwrażliwego (Frej-Mądrzak i in. 2021, Stępień i in. 2014, Szewczyk i in. 2019).

#### 4. Diagnostyka schorzenia

Zespół jelita nadwrażliwego rozpoznaje się na podstawie objawów klinicznych, ponieważ badania diagnostyczne nie są w stanie go potwierdzić. Wykonuje się zatem badania laboratoryjne, które wykluczają inne schorzenia o podobnych objawach. W celu postawienia diagnozy wykorzystuje się Kryteria Rzymskie IV, wprowadzone w 2016 roku. Na ich podstawie zespół jelita nadwrażliwego określany jest jako nawracający ból brzucha, występujący co najmniej jeden dzień w ciągu tygodnia przez ostatnie trzy miesiące, uwzględniając wystąpienie przynajmniej dwóch z poniższych dolegliwości:

- związane ze zmianą konsystencji stolca;
- związane ze zmianą częstotliwości defekacji;
- związane z wypróżnianiem.

Według Kryteriów Rzymskich dolegliwości muszą być nasilone przez ostatnie trzy miesiące, przy wystąpieniu objawów co najmniej sześć miesięcy wcześniej przed rozpoznaniem (Mulak i in. 2016, Skrzydło-Radomańska i Rosołowski 2020).

#### 5. Leczenie zespołu jelita wrażliwego

Zespół jelita wrażliwego nie powoduje poważnych powikłań, jednakże wpływa negatywnie na komfort życia, w związku z tym dąży się do łagodzenia objawów ze strony układu pokarmowego. Stosuje się różne metody leczenia, nefarmakologiczne i farmakologiczne. Pierwszym elementem jest stworzenie dobrej relacji lekarza pierwszego kontaktu z pacjentem. To właśnie lekarz uświadamia pacjenta o istocie schorzenia i na podstawie zebranego wywiadu ocenia stopień nasilenia objawów. Rola lekarza pierwszego kontaktu jest bardzo istotna, gdyż polega na ustaleniu optymalnego postępowania diagnostycznego u osób z podejrzeniem zespołu jelita nadwrażliwego (Cuber i in. 2023, Pietrzak i in. 2018).

W pierwszej kolejności stosuje się działania nefarmakologiczne do których należą: zmiana diety według zaleceń, aktywność fizyczna, psychoterapia. W przypadku zaostrożonej formy IBS bądź braku pozytywnego wpływu postępowania nefarmakologicznego, stosuje się leki, które mają na celu łagodzenie objawów. W zależności od objawów dominujących, dobiera się odpowiednie środki wspomagające (Cuber i in. 2023).

W opublikowanym w 2018 r. największym do tej pory raporcie NutriNet-Sante Cohort, obejmującym 33 343 osoby wykazano, że objawy zespołu jelita nadwrażliwego zależą od stosowanej diety, ponadto jest to efekt „dawkozależny” – np. im więcej jest wysoko przetworzonych produktów w diecie, tym większe jest nasilenie objawów (Pietrzak i in. 2018).

#### 6. Możliwość zastosowania diety low-FODMAP w zespole jelita nadwrażliwego

Grupa dietetyków i gastroenterologów z Uniwersytetu Monash w Australii w 2005 roku dokonała przełomu w badaniach dotyczących działania cukrów na dolegliwości przewodu pokarmowego. Wyodrębnili oni grupę węglowodanów o różnej budowie, ale o podobnych efektach klinicznych, określając je wspólnym mianem FODMAP (Jarocka-Cyrta i Przybyłowicz, 2014). Dieta low-FODMAP (ang. *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides And Polyols*) polega ona na ograniczeniu spożycia naturalnie występujących

w żywności fermentujących krótkołańcuchowych węglowodanów, które przechodzą w formie niezmienionej do jelita cienkiego i tam, przez swoje właściwości osmotyczne, powodują gromadzenie się płynów w świetle jelita i rozciąganie jego ścian oraz powodują przyspieszenie perystaltyki, co wiąże się z występowaniem bólu brzucha, wzdęć, biegunek i innych objawów ze strony układu pokarmowego. W jelicie grubym dochodzi do fermentacji tych węglowodanów przez florę bakteryjną, w wyniku czego powstaje nadmierna ilość gazów, które również mogą powodować ból, ale także dyskomfort, wzdęcia i zaparcia. Do FODMAP zaliczamy: fruktozę (obecną w świeżych i suszonych owocach, zwłaszcza owocach pestkowych, w miodzie czy syropie glukozowo-fruktozowym), laktozę (w produktach mlecznych), fruktany i galaktany (obecne w zbożach, tj. pszenicy, życie, jęczmień, czosnku, cebuli, nasionach roślin strączkowych, warzywach kapustnych, niektórych orzechach i warzywach), poliole (np. mannitol, sorbitol, ksylitol). Dieta jest związana z eliminacją znacznej ilości pokarmów, dlatego zaleca się konsultację z dietetykiem w celu zminimalizowania potencjalnych negatywnych skutków jej stosowania. Jest to złożony, trzy etapowy protokół, umożliwiający identyfikację czynników wywołujących objawy u pacjenta. Najlepiej przebadanym zastosowaniem diety low-FODMAP jest łagodzenie dolegliwości w zespole jelita nadwrażliwego. Istnieją również dowody naukowe na skuteczność jej zastosowania u chorych na nieswoiste choroby zapalne jelit, u których objawy nie ustępują w okresie remisji (Mróz i Korek 2020, Pawlak i in. 2017, Pietrzak i in. 2018).

## 7. Zasady diety

Dieta low-FODMAP jest dietą leczniczą, która ma na celu łagodzenie objawów w przebiegu zespołu jelita nadwrażliwego. Wprowadzana jest w trzech etapach na określony czas – nie jest to dieta na całe życie. Pierwszy etap, zwany eliminacją, trwa 2-6 tygodni i polega na wyeliminowaniu produktów o wysokiej zawartości FODMAP na koszt produktów o niskiej zawartości tych substancji. W przypadku ustąpienia nieprzyjemnych dolegliwości, można przejść do kolejnego etapu, natomiast gdy nie nastąpi poprawa, należy zastosować inny rodzaj pomocy takiemu pacjentowi. Istotne jest, aby nie wydłużać fazy eliminacji, ze względu na jej działanie restrykcyjne i mogące wystąpić w związku z tym niedobory pokarmowe. Drugim etapem jest reintrodukcja. Etap ten trwa 8-12 tygodni i polega na włączaniu do diety produktów bogatych w FODMAP. Należy wprowadzać pojedynczo produkty i monitorować towarzyszące objawy. Stosuje się kilkudniową przerwę by sprawdzić, czy tolerancja na te produkty nie zmieniła się. Ostatni etap zwany personalizacją, polega na zmniejszeniu restrykcji żywieniowych oraz dopasowaniu jadłospisu do preferencji pacjenta z IBS. Do diety wprowadzane są pokarmy o dobrej tolerancji FODMAP, a tych, które wywołują nieprzyjemne dolegliwości należy unikać. Próg tolerancji na produkty bogate w FODMAP może ulec zmianie wraz z postępem czasu, dlatego też pokarmy te można spróbować wprowadzić za jakiś czas ([www.ncez.pzh.gov.pl](http://www.ncez.pzh.gov.pl); [www.pacjent.gov.pl](http://www.pacjent.gov.pl)). Pomimo tego, że dieta low-FODMAP daje satysfakcjonujące efekty w kontrolowaniu dolegliwości IBS, to jest ona dietą, podczas której eliminuje się wiele składników żywieniowych, co w dłuższej perspektywie może prowadzić do zaburzeń odżywiania

– niedożywienia oraz niedoborów witamin, minerałów oraz niezbędnych składników pokarmowych (Catasii i in. 2017, Mróz i Korek 2020, Pietrzak i in. 2018).

## 8. Produkty zalecane i niewskazane

Produktami o wysokiej zawartości FODMAP są m.in. zboża i produkty zbożowe: pszenica, żyto i jęczmień i bazujące na nich chleb, makaron, ciastka, ciasta oraz niektóre płatki śniadaniowe; warzywa: cebula, czosnek, por, buraki, kapusta, brokuły, kalafior, szparagi, buraki, karczochy, groszek zielony, szalotki i bataty (w dużych porcjach), koper, pieczarki, większe ilości kukurydzy; owoce, takie jak jabłka, morele, awokado, , czarne jagody, wiśnie, grejpfruty, mango, nektarynki, brzoskwinie, czereśnie, gruszki, śliwki i arbus; rośliny strączkowe: ciecierzycza, soczewica, czerwona fasola, soja i bób; orzechy i nasiona: niektóre orzechy i nasiona, takie jak pistacje i nerkowce; słodziki: ksylitol, sorbitol, mannitol, maltitol i izomalt. Natomiast produktami o niskiej zawartości FODMAP są: mąka i produkty zbożowe bezglutenowe: ryż, komosa ryżowa oraz tapioka; mleko i produkty mleczne bez laktozy oraz napoje roślinne (ryżowe, migdałowe), ser żółty, ser brie, ser camembert; mięso, ryby, tofu; banany (nieodojrzałe), pomarańcze, mandarynki, ananas, kiwi, melon, rabarbar; papryka, ogórek, marchew, cukinia, ziemniaki, fasola szparagowa, szpinak, jarmuż, dynia, pomidor; syrop klonowy, stewia, aspartam, cukier kryształ oraz orzechy poza wymienionymi powyżej. Należy uwzględnić fakt, że każdy organizm ma indywidualny próg tolerancji i może lepiej lub gorzej reagować na produkty o wysokiej zawartości FODMAP. Stąd też podchodzi się indywidualnie do pacjentów z IBS. Dodatkowo drażniąco na jelita mogą działać produkty, takie jak: kawa, alkohol, ostre przyprawy, błonnik nierozpuszczalny oraz potrawy smażone (Mróz i Korek 2020, Włodarek i in. 2014).

## 9. Dieta low-FODMAP a zespół jelita nadwrażliwego

Dane literaturowe potwierdziły pozytywny wpływ diety z ograniczeniem produktów FODMAP na zespół jelita nadwrażliwego. Badania przeprowadzone przez australijskich naukowców na grupie osób z zespołem jelita nadwrażliwego oraz nietolerancją fruktozy, polegały na ograniczeniu w ich diecie fruktozy, fruktanów oraz polioli. W wyniku badania, u 74% badanych, którzy przestrzegali tych zaleceń przez 6 tygodni, odnotowano złagodzenie dolegliwości, co potwierdziło pozytywny wpływ diety low-FODMAP (Mróz i Korek 2020). Dieta low-FODMAP wpływa pozytywnie na pacjentów z IBS także według badań dokonane przez Halmosa i jego współpracowników (2014). Grupa badanych, składająca się z 30 pacjentów z IBS i 9 osób zdrowych przez 21 dni stosowała low-FODMAP lub zwyczajową dietę. Zmniejszenie negatywnych objawów żołądkowo-jelitowych odnotowano już po tygodniu stosowania omawianej diety, a u 70% pacjentów odnotowano poprawę samopoczucia (Halmos i in. 2014, Pawlak i in. 2017).

Metaanaliza diety low-FODMAP przeprowadzona w 2015 roku wykazała obniżenie dolegliwości sprzyjających IBS poprzez zmniejszenie obciążenia osmotycznego i produkcji gazów w jelicie cienkim (Raskov i in. 2016).

Podsumowując, dieta low-FODMAP może być skutecznym sposobem zmniejszenia dolegliwości ze strony układu pokarmowego, jednakże nie u wszystkich może ona przynieść oczekiwany efekt. Dlatego jeśli po 6 tygodniach stosowania diety, nie obserwuje się zmniejszenia dolegliwości, nie jest rekomendowana jej kontynuacja.

## 10. Psychoterapia

Oś mózgowo-jelitowa powiązana jest z ośrodkowym układem nerwowym (OUN), dlatego też tak często pacjenci odczuwający stres czy lęk, skarżą się na nasilenie objawów typowych dla IBS. Jeśli pacjent z IBS dodatkowo zmaga się z zaburzeniami emocjonalnymi, psychoterapia, jak i leki przeciwdepresyjne mogą okazać się koniecznością (Gracie i in. 2019).

Na podstawie przeglądu różnych artykułów naukowych, dotyczących skuteczności psychoterapii w leczeniu pacjenta z zespołem jelita wrażliwego, zauważono poprawę w funkcjonowaniu codziennym i zdrowiu psychicznym. Z dokonanych porównań najkorzystniej wypadła terapia behawioralno-poznawcza, terapia relaksacyjna oraz hipnoza (Laird i in. 2017, Mearin i in. 2016).

## 11. Farmakoterapia

W przypadku, gdy modyfikacja diety i stylu życia nie przynoszą poprawy stanu zdrowia pacjenta, należy wprowadzić farmakoterapię. Terapia farmakologiczna powinna być odpowiednio dobrana do pacjenta, biorąc pod uwagę występowanie dominujących objawów. W zależności od nasilających dolegliwości stosuje się preparaty błonnikowe (pęczniejące), przeciwbiegunkowe, przeczyszczające lub rozkurczowe (Adrych i Rydzewska 2020).

Do preparatów pęczniejących zaliczyć można nasiona bądź łuski babki jajowatej, czy włókna kukurydziane. Stosowane są w celu zwiększenia częstotliwości oddawania stolca w postaci IBS-C. Z racji występowania dużej ilości błonnika preparaty te mogą jednak przyczynić się do nasilenia bólu brzucha, czy do wywoływania wzdęć. Istotne jest stopniowe wprowadzanie tego rodzaju środków, tak by zapobiec powstaniu dyskomfortu. Wybierając błonnik, należy przyjrzeć się jego formie, bowiem rozpuszczalny jest skuteczniejszy i lepiej przyswajalny, natomiast nierozpuszczalna forma u niektórych pacjentów może nasilić dolegliwości (Bijkerk i in. 2004).

W postaci biegunkowej zespołu jelita nadwrażliwego stosowane są preparaty przeciwbiegunkowe. Jednym z nich jest loperamid, który wpływa na działanie mięśni jelit, powodując wydłużenie czasu pasażu pokarmu i, poprawiając konsystencję stolca. Preparaty te nie łagodzą towarzyszących dolegliwości, ale stosowane profilaktycznie przed dłuższą podróżą lub stresującymi zdarzeniami mogą ograniczyć nasilenie objawów i biegunki (Wall i in. 2014).

Preparaty przeczyszczające to leki o działaniu osmotycznym, które są skuteczne w postaci zaparciowej IBS. Do grupy tych produktów należy glikol polietylenowy, który zmniejsza zaparcia. Stosuje się także laktulozę i sorbitol w celu zwiększenia częstotliwości

wypróżnień, jednak te preparaty mogą wywołać wzdęcia i bóle brzucha. Przyjmowanie preparatów przeczyszczających powinno być sporadyczne (Żelowski i in. 2013).

Badania wykazały korzystny wpływ także leków rozkurczowych na łagodzenie dolegliwości u pacjentów z IBS (Pietrzak i in. 2018). W celu łagodzenia dolegliwości stosowany jest także olejek z mięty pieprzowej. Obecność L-metanolu w olejku ma działanie rozkurczowe na przewód pokarmowy. Do pozytywnych aspektów stosowania olejku miętowego należy także działanie przeciwzapalne i przeciwbakteryjne na organizm. Preparat sprawia, że kanały wapniowe ulegają blokadzie, co w następstwie sprawia, że mięśnie przewodu pokarmowego rozluźniają się (Skrzydło-Radomańska i Rosołowski 2020, Wall i in. 2014).

## **12. Rola probiotyków w leczeniu zespołu jelita drażliwego**

Probiotyki to preparaty lub produkty żywnościowe zawierające pojedyncze lub mieszane hodowle żywych drobnoustrojów, które wywierają korzystny efekt na zdrowie, jeżeli zostały podane w odpowiedniej ilości. W IBS obserwuje się zaburzenia w składzie mikroflory, polegające na zmniejszeniu ilości bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Prevotella*, przy jednoczesnym wzroście ilości patogennych szczepów *Clostridium*, *Streptococcus spp.* i *Enterobacteriaceae* (Kołodziej i in. 2020, Prost 1999).

Przeprowadzone badania potwierdziły korzystny wpływ probiotyków na zmniejszenie się nasilających dolegliwości, typowych dla zespołu jelita nadwrażliwego. Najkorzystniejsze okazały się szczepy bakterii produkujące kwas mlekowy: *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Badania donoszą, że regularne stosowanie probiotyków łagodzi nieprzyjemne dolegliwości pochodzące z przewodu pokarmowego, m.in. wzdęcia i bóle brzucha (Balwierz i in. 2021, Kołodziej i in. 2020, Raskov i in. 2016). Naturalnie probiotyki znajdziemy w mlecznych produktach fermentowanych, takich jak np. jogurt, kefir, maślanka, a także w kiszonkach, tj. w kapuście i ogórkach kiszonych. Istnieją badania, z których wynika, że podawanie odpowiednio przebadanych probiotyków zmniejsza występowanie atopowego zapalenia skóry u niemowląt, łagodzi objawy astmy u dzieci, obniża częstość zachorowań na choroby górnych dróg oddechowych i podawania antybiotyków u dzieci. Probiotyki są też skuteczne w leczeniu ostrych biegunek infekcyjnych i biegunek po antybiotykoterapii (Balwierz i in. 2021, Kołodziej i in. 2020, Mojka 2014).

## **13. Podsumowanie**

Leczenie zespołu jelita nadwrażliwego nie jest łatwym procesem, ale może okazać się skuteczne w przypadku zastosowania odpowiednich działań. Stosowanie się do zaleceń lekarza, odpowiednia dieta oraz psychoterapia mogą pomóc przywrócić równowagę mikroflory jelit, a tym samym poprawić komfort życia pacjenta z zespołem jelita nadwrażliwego.

## Literatura

1. Adrych K. (2019). Zespół jelita drażliwego w świetle najnowszych wytycznych. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 3(2), 89-95.
2. Adrych K., Rydzewska G. (2020). Rozpoznawanie i leczenie zespołu jelita nadwrażliwego w praktyce lekarza rodzinnego. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 4(1), 52-59.
3. Balwierz R. J., Jasiński K., Osowski M., Grela K., Karpęcka-Gałka E., Kusakiewicz-Dawid A., Skotnicka-Graca U. (2021). Rola diety i metod leczenia żywieniowego w ograniczeniu dolegliwości zespołu jelita drażliwego. *Bromatologia Farmaceutyczna*, 77(5), 329-336.
4. Bijkerk C. J., Muris J. W., Knottnerus J. A., Hoes A. W., De Wit N. J. (2004). Systematic review: the role of different types of fibre in the treatment of irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 19(3), 245-251.
5. Catassi G., Lionetti E., Gatti S., Catassi C. (2017). The low FODMAP Diet: many question marks for a catchy acronym. *Nutrients*, 9(3), 292.
6. Crowell M. (2004). Role of serotonin in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *British Journal of Pharmacology*, 141, 1285-1293.
7. Cuber I., Aghadi A., Białowas E., Dybała E., Mazurek M. (2023). Irritable bowel syndrome – a literature review. *Journal of Education, Health and Sport*, 13(4), 53-62.
8. Dworzański T., Fornal R., Koźba Ł., Celiński K., Dworzańska E. (2018). Rola mikrobioty jelitowej w zespole jelita nadwrażliwego. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 215-226.
9. Frej-Mądrzak M., Kołodziej P., Sarowska J., Jama-Kmieciak A. (2021). Wpływ mikrobioty jelitowej na występowanie zaburzeń psychicznych oraz chorób neurodegeneracyjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 75(1), 620-633.
10. Gracie D., Hamlina J., Ford A. (2019). The influence of the brain-gut axis in inflammatory bowel disease and possible implications for treatment. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 4(8), 632-642.
11. Gumieła D. (2020). Postępowanie dietetyczne wśród osób chorujących na zespół jelita drażliwego (IBS). *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 11(3), 120-127.
12. Halmos E., Power V., Shepherd S., Gibson P., Muir J. (2014). A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 146(1), 67-75.
13. Jarocka-Cyrta E., Przybyłowicz K. E. (2015). Rola FODMAP w zaburzeniach czynnościowych przewodu pokarmowego. Część 2. Dieta z ograniczeniem FODMAP. Założenia, efekty kliniczne, niepożądane następstwa. *Standardy Medyczne/Pediatrics*, 12, 89-94.
14. Kassinen A., Krogius-Kurikka L., Mäkituokko H., Rinttilä T., Paulin L., Corander, J., Malinen E., Apajalahti J., Palva A. (2007). The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*, 133(1), 24-33.



15. Kołodziej G., Balwierz R. J., Jasiński K., Osowski M., Bursy D. (2020). Rola składników aktywnych zawartych w suplementach diety i probiotyków stosowanych w przebiegu zespołu jelita drażliwego. *Farmacja Polska*, 76(11), 612-618.
16. Laird K., Tanner-Smith E., Russell A., Hollon S., Walker L. (2017). Comparative efficacy of psychological therapies for improving mental health and daily functioning in irritable bowel syndrome: A systematic. *Clinical Psychology Review*, 51, 142-152.
17. Mearin F., Lacy B., Chang L., Chey W., Lembo A., Simren M., Spiller R. (2016). Bowel Disorders. *Gastroenterology*, 150(6), 1393-1407.
18. Mojka K. (2014). Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki – charakterystyka i funkcje. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 95(3), 541-549.
19. Mróz M., Korek E. (2020). Znaczenie i skuteczność diety low-FODMAP w leczeniu zespołu jelita drażliwego. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 16(4), 355-361.
20. Mulak A., Smerek A., Paradowski L. (2016). Nowości i modyfikacje w Kryteriach. *Gastroenterologia Kliniczna. Postępy i Standardy*, 8(2), 52-61.
21. Nehring P., Mrozikiewicz-Rakowska B., Krasnodębski P., Karnafel W. (2011). Zespół jelita drażliwego – nowe spojrzenie. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 6, 17-22.
22. Pawlak K., Rudzik R., Lewiński M., Majcher S. (2017). Dieta L-FODMAP w leczeniu zespołu jelita drażliwego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 50(2), 179-183.
23. Pietrzak A., Skrzydło-Radomańska B., Mulak A., Lipiński M., Małecka-Panas E., Reguła J., Rydzewska G. (2018). Rekomendacje diagnostyczno-terapeutyczne w zespole jelita nadwrażliwego. *Gastroenterology Review*, 13(4), 167-196.
24. Prost E. (1999). Probiotyki. *Medycyna Weterynaryjna*, 55(2), 75-79.
25. Raskov H., Burcharth J., Pommergaard H. C., Rosenberg J. (2016). Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbes*, 7(5), 365-383.
26. Radovanovic-Dinic B., Tesic-Rajkovic S., Grgov S., Petrovic G., Zivkovic V. (2018). Irritable bowel syndrome – from etiopathogenesis to therapy. *Biomedical Papers*, 162(1), 1-9.
27. Saha L. (2014). Irritable bowel syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. *World Journal of Gastroenterology*, 20(22), 6759-6773.
28. Skrzydło-Radomańska B., Rosołowski M. (2020). Zespół jelita nadwrażliwego. W B. Skrzydło-Radomańska (Red.), *Schemat postępowania w wybranych chorobach gastroenterologicznych*. Warszawa: Medical Education.
29. Soares R. (2014). Irritable bowel syndrome: a clinical review. *World Journal of Gastroenterology*, 20(34), 12144-12160.
30. Stepień A., Walecka-Kapica E., Błońska A., Klupińska G. (2014). Rola tryptofanu i serotoniny w patogenezie i leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego. *Folia Medica Lodziansia*, 41(2), 139-154.
31. Szewczyk A., Witecka A., Kiersztan A. (2019). Rola mikrobioty jelitowej w patogenezie chorób neuropsychiatrycznych i neurodegeneracyjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 73, 865-886.

32. Wall G., Bryant G., Maki E., Bottenberg M., Miesner A. (2014). Irritable bowel syndrome: a concise review of current treatment concepts. *World Journal of Gastroenterology*, 20(27), 8796-8806.
33. Włodarek D., Lange E., Kozłowska L., Głąbska D. (2014). Wybrane choroby przewodu pokarmowego. W *Dietoterapia* (strony 200-205). Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
34. [www.ncez.pzh.gov.pl/choroba-a-dieta/dieta-fodmap-zasady-i-zastosowanie/](http://www.ncez.pzh.gov.pl/choroba-a-dieta/dieta-fodmap-zasady-i-zastosowanie/); dostęp 09.08.2023
35. [www.pacjent.gov.pl/diety/low-fodmap-dieta-w-jelicie-nadwrazliwym/](http://www.pacjent.gov.pl/diety/low-fodmap-dieta-w-jelicie-nadwrazliwym/); dostęp 09.08.2023
36. Żelowski A., Wojtuń S., Gil J., Dyrła P. (2013). Zespół jelita nadwrażliwego – podstawowe zasady rozpoznawania i leczenia. *Pediatrica i Medycyna Rodzinna*, 9(3), 250-255.

## **Characteristics and methods of alleviating symptoms in irritable bowel syndrome**

### **Abstract**

Irritable bowel syndrome (IBS) is a chronic gastrointestinal disease that affects 1.1-45% of the population worldwide. It manifests itself as abnormal bowel movements and abdominal pain in the absence of structural damage to the gastrointestinal tract and biochemical markers. IBS significantly reduces quality of life and is the reason for frequent consultations with primary care physicians and gastroenterology clinics. The pathomechanism of this disorder is currently unknown. Genetic factors, gut motility disorders, visceral hypersensitivity, psychiatric disorders, a history of intestinal infections, intestinal microbiota disorders and food intolerances are suspected to be involved. Currently, the diagnosis of IBS is made on the basis of the Rome IV criteria based on patient-reported symptoms.

## Najczęściej spotykane zaburzenia odżywiania o podłożu psychicznym i ich potencjalne przyczyny

Joanna Kapusta-Duch\*, Marta Kotuła, Barbara Borczak, Wioleta Weiss, Dominika Kwaśny

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki*

\*Autor korespondencyjny: joanna.kapusta-duch@urk.edu.pl

### Streszczenie

Problem zaburzeń odżywiania jest powszechny i wciąż narasta. Ich pojawienie się nie ma jednoznacznej przyczyny, choć upatrywać jej można w czynnikach kulturowych, w tym w roli mediów, genetycznych, rodzinnych oraz w indywidualnych predyspozycjach danej jednostki. Niezależnie od przyczyny, zaburzenia te mogą być bardzo groźne w skutkach, stąd niezmiernie ważna jest szybka diagnoza i rozpoczęcie leczenia. Ogromną rolę odgrywa także motywacja samego pacjenta oraz wsparcie, na jakie może liczyć ze strony otoczenia. Należy zaznaczyć, iż najważniejszą rolę w leczeniu zaburzeń odżywiania o podłożu psychicznym odgrywa psychoterapia. Interwencja żywieniowa, obejmująca leczenie żywieniowe może stanowić nieodzowne wsparcie terapii. Aby jednak leczenie żywieniowe mogło być skuteczne, musi być bardzo dobrze dopasowane do danego pacjenta, jego wieku, stanu zdrowia, preferencji żywieniowych oraz stanu fizjologicznego. W pracy przedstawiono najczęściej występujące zaburzenia odżywiania oraz ich potencjalne przyczyny.

**Słowa kluczowe:** jadłowstręt, bulimia, ortoreksja, dysmorfia mięśniowa, zespół jedzenia nocnego, otyłość

### 1. Wprowadzenie

Zaburzenia odżywiania (ang. *eating disorders*) określa się jako złe nawyki żywieniowe, których wspólną cechą jest charakterystyczny sposób myślenia i zachowania. Są to problemy natury psychologicznej, jednakże ich konsekwencje dotyczą także sfer społecznej oraz fizycznej. Mogą one stanowić istotne zagrożenie nie tylko dla zdrowia, ale także dla życia, zarówno u współczesnych kobiet, jak i mężczyzn. Są dość powszechnym problemem, który najprawdopodobniej będzie narastał. W ostatnim stuleciu zauważono wyraźny wzrost liczby przypadków zaburzeń odżywiania, zwłaszcza wśród nastolatków i młodych dorosłych. W większości zaburzenia odżywiania wykrywane są u nastoletnich dziewcząt, chociaż mogą dotyczyć osób obu płci i w każdym przedziale wiekowym (Bąba-Kubiś i in. 2018, Funez-Sokoła i in. 2018, Jabłońska i in. 2019, Komorowska-Szczepańska i in. 2016, Nowogrodzka i Piasecki 2012).

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zaburzeń odżywiania o podłożu psychicznym.

## 2. Klasyfikacja i przyczyny zaburzeń odżywiania

Zaburzenia odżywiania mogą występować pod wieloma postaciami, najczęściej wymienia się: jadłowstręt psychiczny, żarłoczność psychiczną, pregoreksję, ortoreksję, bigoreksję, zespół jedzenia nocnego, zespół kompulsywnego objadania się, czy łaknienie spazyczne. Część z wymienionych zaburzeń została zaklasyfikowana zgodnie z ICD-10 (International Classification of Diseases, Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób) i/lub DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual for Mental Diseases, Kryteria diagnostyczne zaburzeń psychicznych, wersja 5, 2013) jako zaburzenia odżywiania, część natomiast jest włączona do innych grup chorób lub nie jest wymieniana jako samodzielna jednostka chorobowa (np. ortoreksja, bigoreksja). W klasyfikacji ICD-10 jako jednostki chorobowe ujęte zostały: jadłowstręt psychiczny, jadłowstręt psychiczny atypowy, żarłoczność psychiczna, atypowa żarłoczność psychiczna, przejadanie się związane z innymi czynnikami psychicznymi, inne zaburzenia odżywiania się oraz zaburzenia odżywiania się nieokreślone, ale także otyłość (numer E66) (Funez-Sokoła i in. 2018, Jabłońska i in. 2019, Seligman i in. 2003).

Spośród zaburzeń odżywiania, w DSM-V jako osobna kategoria ujęte zostały: jadłowstręt psychiczny, żarłoczność psychiczna, łaknienie spazyczne, zespół przeżuwania, czy napadowe objadanie się. Inne schorzenia, np. zespół jedzenia nocnego klasyfikowany jest jako „inne określone zaburzenia odżywiania”. Zaś ortoreksja, bigoreksja czy zaburzenie odżywiania związane ze snem nie są w ogóle ujęte w DSM-V (Kucharska i in., 2018, Michalska i in. 2016). O istocie problemu może świadczyć fakt, iż w ciągu ostatnich 40 lat odsetek zachorowań na jadłowstręt psychiczny i bulimię wzrósł dziesięciokrotnie, a WHO (World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia) podniosła otyłość do rangi epidemii XXI wieku ([www.who.int](http://www.who.int)). Zaburzenia odżywiania niosą ze sobą wiele poważnych konsekwencji, dlatego bardzo istotna jest profilaktyka oraz psychoedukacja w kwestii zasad zdrowego odżywiania, a także propagowanie prawidłowych wzorców piękna i zdrowia u młodych ludzi. Niezwykle ważne jest również zauważanie pierwszych oznak rozwijającej się choroby i nieprawidłowych zachowań, gdyż choroba, która w pełni się rozwinęła jest znacznie trudniejsza do wyleczenia (Funez-Sokoła i in. 2018, Jabłońska i in. 2019).

Należy zaznaczyć, iż wszyscy pacjenci cierpiący na zaburzenia odżywiania powinni znajdować się pod stałą opieką lekarza psychiatry. Jednak, choć podstawową rolę w leczeniu zaburzeń odżywiania pełni pomoc psychologiczna, to zgodnie ze stanowiskiem Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego (American Psychiatric Association, APA) oraz Amerykańskiego Towarzystwa Dietetycznego (American Dietetic Association, ADA) interwencja żywieniowa, obejmująca doradztwo żywieniowe, prowadzone przez odpowiednio wykwalifikowanego dietetyka, jest jednym z głównych elementów terapii zaburzeń odżywiania, m.in. anoreksji i bulimii, zarówno podczas diagnozy, jak i przez cały okres leczenia (American Dietetic Association 2006, American Dietetic Association 2013, American Psychiatric Association 2006, Rabe-Jabłońska i in. 2008).

### **2.1. Czynniki wpływające na wystąpienie i przebieg choroby**

Problemy z odżywianiem się stanowią jedynie zewnętrzny objaw wielu problemów natury osobowościowej, stąd też należy mieć świadomość, iż ich etiologia jest bardzo złożona. Na zachorowanie i przebieg choroby składają się trzy grupy czynników: predestynujące, wyzwalające oraz podtrzymujące (Garfinkel i Garner 1997, Mroczkowska, 2012).

Czynniki predestynujące pojawiają się jeszcze przed wystąpieniem objawów zaburzenia. Można wśród nich wyróżnić predyspozycje: kulturowe (np. propagowanie szczupłej sylwetki, czy oczekiwanie przez społeczeństwo atrakcyjności), rodzinne (np. trudności w osiągnięciu autonomii i niezależności, specyficzny model rodzinny) oraz indywidualne (np. perfekcjonizm w wielu dziedzinach życia, problemy w nawiązywaniu kontaktów, zaburzone postrzeganie własnego ciała, konflikty dotyczące roli płciowej, czy skłonność do depresji). Determinanty predestynujące stanowią podłoże do rozwoju zaburzeń odżywiania (Garfinkel i Garner 1997, Mroczkowska 2012).

Przez działanie czynników wyzwalających objawy choroby zaczynają być widoczne. Czynniki wyzwalającymi są często sytuacje wywołujące stres, np. zmiana szkoły czy rozwój rodziców. Jako czynniki te wymienia się także wejście w okres adolescencji i nieumiejętność poradzenia sobie z trudnościami (Mroczkowska 2012).

Czynniki podtrzymujące utrudniają zdrowienie, ponieważ mogą wzmacniać istniejące objawy. Ma to miejsce poprzez dostrzeganie korzyści z choroby, np. w postaci większego zainteresowania oraz troski ze strony rodziny i najbliższego otoczenia czy poczucia sukcesu w dążeniu do celu (Mroczkowska 2012).

### **2.2. Przyczyny zaburzeń odżywiania się**

Określenie podłoża zaburzeń odżywiania się wymaga podejścia wielowymiarowego. Należy brać pod uwagę: model genetyczny, model psychoanalityczny, model poznawczo-behawioralny, model społeczno-kulturowy, podejście systemowe oraz teorię wydarzeń znaczących (Świątkowska 2022). Podejście wielopłaszczyznowe jest jedynym, które umożliwia odpowiednie dobranie podejmowanych działań i udzielenie pomocy, co ma znaczenie zarówno ze strony specjalistów, jak i otoczenia. Podkreśla się także możliwość oddziaływania na siebie różnych czynników (biologicznych, psychologicznych, behawioralnych czy społeczno-kulturowych). Właściwe rozpoznawanie jest często komplikowane przez subiektywną interpretację i uzasadnienie swojego postępowania przez pacjenta, co może wynikać z braku umiejętności właściwego wyrażania siebie, spowodowanego ograniczeniami rozwojowymi, związanymi z pojawieniem się choroby w młodym wieku (Funez-Sokoła i in. 2018, Komorowska-Szczepańska i in. 2016, Ogden 2011, Treasure i in. 2010).

Model genetyczny związany jest z fizjologicznym podłożem odżywiania się. Dowiedziono, że anoreksja występuje nawet 10 razy częściej u kobiet, które są spokrewnione z osobami cierpiącymi na to zaburzenie, a ryzyko jego wystąpienia jest wyższe, kiedy dotyczy to pokrewieństwa drugiego stopnia. Podobnie w przypadku bulimii – jest ona częściej obserwowana wśród osób będących rodziną chorego. Rolę czynników genetycznych

podkreśla fakt, iż jednoczesne wystąpienie anoreksji stwierdza się aż u 57% bliźniąt jednojajowych, w porównaniu do 12% u bliźniąt dwujajowych (Hoffmann 2021).

Zwraca się również uwagę na rolę neuroprzekazników w występowaniu zaburzeń odżywiania. Dowiedziono, iż u osób cierpiących na jadłowstręt psychiczny obniżona jest aktywność serotoniny, dopaminy oraz noradrenaliny, co ma wpływ na regulację łaknienia, wydzielanie hormonów, przyjmowanie pokarmów oraz może korelować z zachowaniami kompulsywnymi i stanami lękowymi. Ponadto obserwuje się odmienne działanie układu nagrody, gdyż jego pobudzenie u osób zdrowych powoduje euforię, natomiast u osób dotkniętych anoreksją – lęk. Mężczyźni stanowią około 10% stwierdzonych przypadków zaburzeń odżywiania (są to zwłaszcza bulimia i zespół kompulsywnego objadania się), jednakże diagnoza bywa trudniejsza (choćby ze względu na osobowość lub przyjęte w DSM-IV kryterium rozpoznania anoreksji w postaci zaniku miesiączkowania). Rozważając obecność jedynie wybranych objawów, różnice są już mniejsze. Płeć żeńska jest niewątpliwie czynnikiem zwiększającym szanse wystąpienia zaburzeń odżywiania, jednak nie bez znaczenia pozostaje kwestia przynależności czy identyfikacji seksualnej. Mianowicie, badania wśród grupy homoseksualistów obu płci i różnych ras wykazały, że bardziej narażeni na zaburzenia odżywiania są mężczyźni homoseksualni i biseksualni (szczególnie Latynosi i rasy czarnej), w porównaniu do heteroseksualnych. Wśród kobiet nie wykazano podobnej zależności (Bąk 2008, Feldman i Meyer 2007, Ogden 2011, Jabłońska i in. 2019, Mróz i Korek 2020, Strober i in. 1990).

Model psychoanalityczny koncentruje się na roli okresu niemowlęctwa i dzieciństwa w kształtowaniu osobowości oraz na znaczeniu, funkcji i potrzebie występowania objawów chorobowych u danej osoby. Wskazuje się na dwie zasadnicze przyczyny unikania pokarmu – pierwsza określa te objawy jako sferę, w której osoba chora sprawuje kontrolę nad swoim życiem, natomiast druga szuka przyczyn objawów w traktowaniu siebie przez osobę chorą jak dziecka, które samo sobie nie poradzi i potrzebuje opieki. Przyczyn wystąpienia zaburzeń upatruje się w relacjach jakie panowały w rodzinie, m.in.: wysokie oczekiwania rodziców wobec dziecka (wywołujące presję sprostania im), czy nadopiekuńczość rodziców (powodująca trudności z uzyskaniem samodzielności przez dziecko i kształtująca poczucie bezradności wobec otoczenia). Wymienia się również angażowanie dziecka w konflikty pomiędzy rodzicami i związane z tym obwinianie się dziecka za zaistniałe sytuacje. Wpływ może mieć także unikanie konfliktów i trudności, skutkujące ukształtowaniem się w dziecku biernej postawy i braku umiejętności rozwiązywania problemów (Ogden 2011, Jabłońska i in. 2019).

Modele poznawczo-behawioralne podkreślają zasadnicze zachowania charakterystyczne dla zaburzeń odżywiania, które utrwalają się przez ich pozytywne lub negatywne wzmocnienie. Zwraca się uwagę na stan niezadowolenia, spowodowany trudnościami w kontaktach interpersonalnych oraz konfliktami rodzinnymi. Stan ten może łączyć się z perfekcjonizmem, odzwierciedlającym potrzebę kontroli i sukcesu. Jak dowodzą badania, u osób z zaburzeniami odżywiania obserwuje się zaawansowaną tendencję do perfekcyj-

nizmu, zwłaszcza skierowanego na siebie (choć również perfekcjonizm matek może się przyczynić do wystąpienia zaburzeń). Innymi cechami korelującymi z zaburzeniami odżywiania są: niska samoocena, skłonność do rywalizacji, strach przed przytyciem, nadmierna troska o masę ciała i sylwetkę. Nie bez znaczenia dla wystąpienia objawów zaburzeń jest stosowanie restrykcyjnych diet, dysfunkcyjne myślenie na temat masy ciała, występowanie napadów objadania się z towarzyszącymi im następnie restrykcjami pokarmowymi, zły nastrój, złość czy stres. Unikanie pożywienia może zmniejszać lęk spowodowany przyrostem masy ciała jako konsekwencją jedzenia. Innym jego skutkiem może być zwiększona uwaga matki, czy też odczuwanie przyjemności z odczucia pustego żołądka, co również wzmacnia nieprawidłowe zachowanie. Wygłodzenie może też powodować pozytywne odczucie kontroli. Zaburzenia odżywiania wiążą się z presją społeczną na bycie szczupłym, a nadmierna masa ciała może powodować poczucie własnej nieatrakcyjności oraz brak akceptacji wśród osób z otoczenia. W przypadku bulimii zachowania takie jak wymioty czy wywoływanie biegunek (przeczyszczanie) zmniejszają lęk, co nasila te zachowania (Castro-Fornieles i in. 2007, Jabłońska i in. 2019, Mikołajczyk i Samochowiec 2004, Ogden 2011, Wade i in. 2008).

Według modelu systemowego, zaburzenia odżywiania rozwijają się w określonych relacjach rodzinnych, stając się ich elementem. To właśnie na rodzinie jako jednostce społecznej skupia się podejście systemowe, stawiając ją nie jako bezpośrednią przyczynę zaburzeń odżywiania, lecz niejako osadza te zaburzenia w kontekście rodziny. Wystąpienie objawów traktować można jako próbę komunikacji w rodzinie, w odpowiedzi na występujące w niej konflikty. Objawy mogą też służyć przywróceniu zachwianej równowagi w systemie rodzinnym lub odwracać uwagę od występujących problemów rodzinnych (Ogden 2011).

Model społeczno-kulturowy stawia zaburzenia odżywiania jako formę wyrażania wartości społecznych i rozpatruje je w szerszym kontekście, w porównaniu do modelu systemowego. Zaburzenia odżywiania traktowane są jako wytwór wielu konfliktów dotyczących płci, przestrzeni społecznej, czy tożsamości, powodujących uczucie braku kontroli i wyrażanych za pomocą jedzenia (Ogden, 2011).

Jako czynnik wyzwalający można traktować również niektóre znaczące wydarzenia, np. wykorzystywanie seksualne w dzieciństwie, czy utratę rodzica, badając w jakim stopniu mogły one determinować wystąpienie zaburzeń; znajdują one jednak niewielkie potwierdzenie w literaturze (Ogden 2011).

Na wystąpienie niektórych chorób i zaburzeń psychicznych, w tym zaburzeń odżywiania może mieć także wpływ mikrobiota jelitowa (Frej-Mądrzak i in. 2021). Również samo zaburzenie ma wpływ na jej stan, co może jeszcze pogłębić problemy ze zdrowiem. Stres wraz z ograniczeniem pożywienia powoduje zwiększenie przepuszczalności bariery jelitowej oraz przemieszczanie się bakterii poza jelito, przez co aktywowany jest układ immunologiczny. Pod wpływem stresu zmienia się skład mikrobioty – zmniejsz się udział bakterii z rodzaju *Bacteroides*, a rośnie udział *Clostridium*. Zmiany w składzie i różnorodności

mikrobioty mogą również wpływać na aktywność neuropeptydów odpowiedzialnych za uczucie głodu i sytości, ponieważ białka niektórych bakterii wchodzących w skład mikrobioty posiadają odcinki homologiczne do tychże neuropeptydów. Lipopolisacharyd i flagelina, będące substancjami pochodzenia bakteryjnego, wiążąc się z odpowiednimi receptorami, wpływają na wydzielanie hormonów regulujących uczucie głodu i sytości (Fetissov i Dechelotte 2017, Karakuła-Juchnowicz i in. 2017, Jabłońska i in. 2019).

Nie można pominąć roli mediów i trendów, jako czynników społeczno-kulturowych mających wpływ na powstawanie zaburzeń odżywiania. Z jednej strony mamy do czynienia z wszechobecnymi reklamami żywności wysokoprzetworzonej, łatwodostępnej i bogatoenergetycznej, której spożycie przyczynia się w bardzo szybkim tempie do wystąpienia otyłości, z drugiej zaś strony szczupła sylwetka jest powszechnie traktowana jako wyznacznik piękna i sukcesu. Zależność pomiędzy sukcesem, atrakcyjnością, zdrowiem, silną wolą i dbałością o siebie a wyglądem wydaje się bardzo mocno podkreślana przez media. Natomiast osoby z nadmierną masą ciała mogą uchodzić za zaniedbane i leniwe. W związku z tym, iż to telewizja i Internet mają znaczący wpływ na sposób żywienia oraz wyznaczają niejednokrotnie standardy atrakcyjności, może się okazać, że osoby o małej pewności siebie, podatne na manipulację i o niskim poczuciu własnej wartości będą za wszelką cenę próbować sprostać nierealistycznym wzorcom (Dziukiewicz 2018). Przykładowo, korzystanie z aplikacji Instagram tj. fotograficznego serwisu społecznościowego, a co za tym idzie, duża styczność z kreowanym tam trendem na bycie „fit” i posiadanie idealnej sylwetki, prowadzi u wielu dziewcząt do błędnej oceny swojego ciała, czego skutkiem mogą stać się zaburzenia odżywiania. W badaniu Turner i Lefevre (2017), w którym wzięło udział 680 kobiet, okazało się, iż osoby, które więcej czasu spędzały używając Instagrama, osiągały mniej punktów w teście ORTO-15 (jest to kwestionariusz mający na celu wykrycie symptomów ortoreksji). Niższy wynik testu świadczy o większym nasileniu objawów tego zaburzenia (Kałądkiewicz i Doboszyńska 2013, Możdzonek i Antosik 2017, Turner i Lefevre 2017, Andrzejewski 2018, Wasik 2018). Należy mieć świadomość istnienia w internecie blogów promujących jadłowstręt psychiczny czy bulimię. Są to odpowiednio ideologie pro-ana (dotyczy dążenia do bycia chudym - jako dążenia do ideału, jest to styl życia, a anoreksja traktowana jest jako alternatywny sposób odchudzania, lub wręcz przyjaciółka – „Ana”) oraz pro-mia (ruch ten opiera się na poprzednim, jednak to bulimię promuje jako skuteczny sposób odchudzania, podobnie nazywając ją przyjaciółką, „Mią”). Istnienie takich ogólnodostępnych stron niekoniecznie musi przyczyniać się do rozwoju zaburzenia, jednakże z pewnością może być czynnikiem podtrzymującym lub nawet pogłębiającym chorobę i utrudniającym zdrowienie (Gale i in. 2016, Wronka i Jezierska-Kazberuk 2011).

Warto mieć również na uwadze rolę stresu jako przyczyny zaburzeń odżywiania. Przedłużający się stan wzmożonego napięcia nerwowego może stanowić czynnik ryzyka rozwoju otyłości, a z czasem prowadzić do przewlekłych chorób psychosomatycznych, w tym do zaburzeń odżywiania. Stres jest również jednym z ważnych czynników wyzwalających lub podtrzymujących fazę ograniczającą w anoreksji.



Dodatkowo okazuje się, iż zaburzenia odżywiania się częściej ujawniają się u osób, których matki w trakcie ciąży były narażone na stres (oraz u których doszło do urazów okołoporodowych i u wcześniaków) (Drywień 2010, Kucharska i in. 2018).

### 3. Przegląd zaburzeń odżywiania

Zaburzenia odżywiania można podzielić na 2 rodzaje (Komorowska-Szczepeńska i in. 2016):

- specyficzne: jadłowstręt psychiczny, bulimia psychiczna,
- niespecyficzne: ortoreksja, dysmorfia mięśniowa, kompulsywne objadanie się, zespół jedzenia nocnego, otyłość itd.

Poniżej przedstawiono krótkie charakterystyki najbardziej rozpowszechnionych zaburzeń odżywiania.

#### 3.1. Jadłowstręt psychiczny (*anorexia nervosa*)

Anorexia nervosa oznacza „brak łaknienia o podłożu psychicznym”. Pierwszy opis pacjenta, autorstwa Richarda Morton’a, wskazujący na to zaburzenie pochodzi z 1689 roku. Jest to schorzenie polegające na drastycznym ograniczeniu pokarmu, połączone ze stosowaniem dodatkowych środków (hamujących łaknienie, przeczyszczających), wskutek silnego lęku przed przytyciem i błędnym postrzeganiem swojego ciała. Osoba chora utrzymuje masę ciała poniżej 85% masy uznawanej za odpowiednią dla danej płci, wieku i wzrostu, często stosuje głodówki i intensywny wysiłek fizyczny. Działania te prowadzą do wycieńczenia, zaniku miesiączki i wielu innych, groźnych skutków (Ogden 2011, Nowogrodzka i Piasecki 2012).

#### 3.2. Bulimia psychiczna (*bulimia nervosa*)

Bulimia dosłownie oznacza „byczy głód”; charakteryzuje się występowaniem regularnych, trudnych do opanowania napadów objadania się, trudną do powstrzymania chęcią jedzenia i unikaniem skutków objadania się poprzez prowokowanie wymiotów lub stosowanie środków przeczyszczających i moczopędnych. Osoby chore stosują również głodówki, diety i intensywne ćwiczenia fizyczne, a poprzez te zabiegi kompensacyjne często ich masa ciała oscyluje wokół prawidłowej. Podobnie jak w przypadku anoreksji, również i żarłoczności psychicznej towarzyszy chorobliwy strach przed przytyciem i nadmierna koncentracja na masie ciała i wyglądzie. Podczas epizodów objadania się pojawiają się uczucia przymusu jedzenia ogromnych ilości jedzenia oraz utraty kontroli, a następnie poczucie winy (Ogden 2011, Nowogrodzka i Piasecki 2011).

#### 3.3. Ortoreksja

Pojęcie ortoreksji wprowadził amerykański lekarz Steven Bratman w 1997 roku. Jest to zaburzenie charakteryzujące się obsesją na punkcie spożywania wyłącznie zdrowej żywności, w celu uniknięcia choroby i/lub poprawy sprawności fizycznej. Osoba chora stopniowo eliminuje z diety kolejne produkty, które uważa za niezdrowe, aż w końcu jedynym produktem może pozostać woda (również starannie wyselekcjonowana). Skutkiem

takiego postępowania jest utrata masy ciała i niedożywienie. Chory czyta etykiety, zwraca dużą uwagę na jakość produktów i ich sposób obróbki, często robi zakupy jedynie w sklepach ekologicznych i wręcz niemożliwym jest dla niego zjedzenie posiłku, którego nie przygotował samodzielnie (Komorowska-Szczepańska i in. 2016).

#### **3.4. Pregoreksja – anoreksja ciążowa**

Pregoreksja to ujawniające się u kobiety ciężarnej zachowania anorektyczne, czego celem jest jak najmniejszy przyrost masy ciała w ciąży, a następnie jak najszybszy powrót do dawnej sylwetki. Ciężarne cierpiące na to schorzenie stosują dietę i przesadną aktywność fizyczną, co może mieć niekorzystny wpływ zarówno na matkę, jak i dziecko. Najbardziej niebezpieczne zachowania stanowią: przyjmowanie leków przeczyszczających i moczopędnych. Skutkami pregoreksji mogą być: poronienie, wady wrodzone, przedwczesny poród, niska masa urodzeniowa dziecka, opóźniony rozwój noworodka, trudności w karmieniu, wyższy współczynnik umieralności niemowląt i wiele innych (Komorowska-Szczepańska i in. 2016, Warchał 2016, Harasim-Piszczatowska i Krajewska-Kułak 2017).

#### **3.5. Bigoreksja – dysmorfia mięśniowa**

Bigoreksja jest schorzeniem dotyczącym prawie wyłącznie mężczyzn i charakteryzuje się subiektywnym poczuciem posiadania zbyt małej masy mięśniowej. Wiąże się to z odczuciem własnej nieatrakcyjności, obniżonym nastrojem, a zwiększenie masy mięśniowej staje się najważniejszym celem, któremu podporządkowany jest cały plan dnia. Osoba chora stosuje ograniczenia żywieniowe i nadmierną aktywność fizyczną. Może się też zdarzyć, że rezygnuje ze wszystkich innych aktywności poza treningiem na siłowni, a jej rytuałem staje się mierzenie obwodów. Problem ten dotyczyć może aż 10% kulturystów (Komorowska-Szczepańska i in. 2016, Michalska i in. 2016, Warchał 2016).

#### **3.6. Napadowe objadanie się (ang. binge-eating disorder, BED)**

Zespół kompulsywnego objadania się jest uwzględnioną w DSM-5 jednostką chorobową, cechującą się nawracającymi epizodami szybkiego jedzenia znacznych ilości pokarmu, przekraczających przeciętne możliwości większości ludzi, czemu towarzyszy uczucie utraty kontroli, poczucie winy, wstydu, stres, odraza i niska samoocena. Napady takie występują zwykle w samotności, co najmniej raz w tygodniu przez 3 miesiące (Komorowska-Szczepańska i in. 2016, Michalska i in. 2016).

#### **3.7. Zespół jedzenia nocnego (ang. night eating syndrome, NES)**

Zespół jedzenia nocnego to zdarzająca się co najmniej 2 razy w tygodniu przez 3 miesiące wieczorna żarłoczność, kiedy to więcej niż 25% dziennej racji żywieniowej jest spożywana po wieczornym posiłku. Rano natomiast występuje brak łaknienia. Następuje utrata kontroli i silna potrzeba jedzenia, bez którego osoba chora nie jest w stanie zasnąć. Późniejszy sen nie jest efektywny. NES występuje u około 1,5% ludzi w populacji ogólnej, jednak częściej zdarza się u osób odchudzających się, z otyłością i leczonych psychiatrycznie (Michalska 2016).

### **3.8. Zaburzenie odżywiania się związane ze snem (ang. sleep-related eating disorder, SRED)**

SRED jest zaburzeniem związanym z nieświadomym napadem jedzenia podczas snu, zwykle powiązanim z nadwagą. Chorzy rano nie pamiętają nocnych posiłków, nie występują też zachowania kompensacyjne. Mogą występować urazy związane z niebezpiecznymi zachowaniami podczas snu (Michalska 2016).

### **3.9. Pica – łaknienie spaczone**

Pica jest schorzeniem polegającym na zjadaniu niejadalnych, nieodżywczych przedmiotów, np. skrobi, ziemi, kału, szkła, kamieni, włosów, drewna, wydzieliny z nosa. Może skutkować groźnymi następstwami somatycznymi (wrzody żołądka, infekcje, perforacje i niedrożność przewodu pokarmowego, zatrucia) (Michalska 2016, Warchał 2016).

### **3.10. Zespół przeżuwania (ruminacja)**

Zespół przeżuwania najczęściej występuje u dzieci (choć nie tylko). Jest też niejednokrotnie zachowaniem obecnym przy anoreksji. Polega na przeżuwaniu i wypluwaniu jedzenia bez jego połykania, lub na przeżuwaniu cofających się z żołądka pokarmów. Nie wynika z wad lub chorób przewodu pokarmowego (Michalska 2016, Warchał 2016).

### **3.11. Neofobia żywieniowa**

Neofobia żywieniowa zwykle obserwowana jest w okresie dzieciństwa i w mniejszym stopniu w starości. Nie jest to zwykłe wybrzydzenie o charakterze przejściowym, lecz unikanie spożywania nowych pokarmów związane z dużą niechęcią do nich. Warto w tym przypadku zadbać o estetyczne podanie, zaangażowanie dziecka w gotowanie, miłą atmosferę i uzbroić się w cierpliwość. Niezbędna jest również edukacja (Komorowska-Szczyńska i in. 2016).

### **3.12. Zaburzenie polegające na ograniczeniu/unikaniu przyjmowania pokarmów (ang. Avoidant/Restrictive Food Intake Disorder, ARFID)**

ARFID jest zdefiniowanym w 2013 roku w DSM-5, zaburzeniem związanym z ograniczaniem lub unikaniem pokarmów. Nie jest to zaburzenie krótkotrwałe, a charakteryzuje się brakiem zainteresowania u dziecka jedzeniem, niepokojem podczas pory posiłków, wrażeniem nieodczuwania przez nie głodu, a jednocześnie chętnym spożywaniem pokarmów z wąskiej preferowanej grupy (zwykle 5-10 produktów). Preferowane produkty muszą wykazywać odpowiednie cechy oczekiwane przez dziecko, być spożywane w konkretnym miejscu, pochodzić np. od konkretnego producenta, a już nawet niewielkie zmiany grafiki na opakowaniu budzą w dziecku lęk i odmowę jedzenia. Pojawiają się więc często niedobory pokarmowe. Ważne jest, by nie zmuszać dziecka do jedzenia oraz nie przemycać nowych produktów. Dziecko zawsze powinno mieć dostęp do wybranych przez siebie pokarmów, gdyż w przeciwnym razie wiązałoby się to z jego głodem (Baj Lieder 2019).

#### 4. Podsumowanie

W pracy została przybliżona krótka charakterystyka niespecyficzných i specyficzných zaburzeń odżywiania oraz prawdopodobne czynniki, które mogą wpływać na ich wystąpienie lub rozwój. Złożona etiologia zaburzeń odżywiania wymaga podejścia interdyscyplinarnego, uwzględniającego m.in. modyfikację elementów stylu życia, w szczególności zachowań żywieniowych, ale także niezbędnego wsparcia psychologicznego oraz wdrożenia postępowania farmakologicznego. Konieczne jest zgłębianie wiedzy w powyższym zakresie oraz prowadzenie edukacji dotyczącej problematyki zaburzeń odżywiania wśród społeczeństwa, a szczególnie rodziców i opiekunów dorastających dzieci.

#### Literatura

1. American Dietetic Association (2006). Position of the American Dietetic Association: Nutrition intervention in the treatment of anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(12), 2073-2082.
2. American Dietetic Association (2011). Position of the American Dietetic Association: Nutrition Intervention in the Treatment of Eating Disorders. *Journal of the American Dietetic Association*, 111, 1236-1241.
3. American Psychiatric Association (2006). Treatment of patients with eating disorders, third edition. American Psychiatric Association. *American Journal of Psychiatry*, 163, 4-54.
4. Andrzejewski A. (2018). Kompulsywne nadużywanie mediów społecznościowych a ryzyko rozwoju zaburzeń odżywiania – na przykładzie aplikacji Instagram. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, 31(2), 243-254.
5. Baj Lieder M. (2019). ARFID, czyli coś więcej niż zwykły niejadek. *Food Forum*, 5(33), 46-48.
6. Bąba-Kubiś A., Pełka-Wysiecka J., Liśkiewicz P., Wroński M., Konopka A., Samochowiec J. (2018). Anoreksja – jadłowstręt psychiczny. *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 64(4), 5-9.
7. Bąk D. (2008). Zaburzenia odżywiania się u mężczyzn. *Psychiatria Polska*, 42, 2, 167-178.
8. Castro-Fornieles J., Gual P., Lahortiga F., Gila A, Casula V. Fuhrmann C, Imirizaldu M., Saura B., Martínez E. (2007). Self-oriented perfectionism in eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 40(6), 562-568.
9. Dziukiewicz J. (2018). Mass media jako przestrzeń kreowania zachowań zdrowotnych społeczeństwa – dwie strony medalu. *Media and Society*, 9, 127-142.
10. Drywień M. A. (2010). Zaburzenia odżywiania. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 59, 337-344.
11. Feldman M. B., Mayer I. H. (2007). Eating disorders in diverse lesbian, gay, and bisexual populations. *International Journal of Eating Disorders*, 40, 218-226.

12. Fetissov S. O., Dechelotte P. (2011). The new link between gut-brain axis and neuropsychiatric disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 14, 477-482.
13. Frej-Mądrzak M., Kołodziej P., Sarowska J., Jama-Kmieciak A. (2021). Wpływ mikrobioty jelitowej na występowanie zaburzeń psychicznych oraz chorób neurodegeneracyjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 75(1), 620-633.
14. Funez-Sokoła K., Kostecka B., Kucharska K. (2018). Czynniki predysponujące do zachorowania na jadłowstręt psychiczny ze szczególnym uwzględnieniem zawodów podwyższonego ryzyka. *Psychiatria po Dyplomie*, 15(2), 1-6.
15. Gale L., Channon S., Lerner M., James D. (2016). Experiences of using pro-eating disorder websites: A qualitative study with service users in NHS eating disorder services. *Eating and Weight Disorders*, 21(3), 427-434.
16. Garfinkel P. E., Garner D. M. (1997). *Anorexia Nervosa: A Multidimensional Perspective*. New York/London, Brunner/Mazel.
17. Harasim-Piszczatowska E., Krajewska-Kułak E. (2017). Pregoreksja – anoreksja kobiet ciężarnych. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 13(3), 363-367.
18. Hoffmann B. (2021). Zaburzenia odżywiania w ujęciu historycznym. *Człowiek-Niepełnosprawność-Społeczeństwo*, 52(2), 99-119.
19. Jabłońska E., Błądkowska K., Bronkowska M. (2019). Zaburzenia odżywiania jako problem zdrowotny i psychospołeczny. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 68(1), 121-132.
20. Jagielska G., Przedlacki J., Bartoszewicz Z., Racicka E. (2016). Zaburzenia mineralizacji kości jako powikłanie jadłowstrętu psychicznego – etiologia, rozpowszechnienie, przebieg i leczenie. *Psychiatria Polska*, 50(3), 509-520.
21. Kałędkiewicz E., Doboszyńska A. (2013). Ortoreksja na tle innych zaburzeń odżywiania. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 7, 6, 307-315.
22. Karakuła-Juchnowicz K., Pankowicz H., Juchnowicz D., Valverde Piedra J.L., Małecka-Massalska T. (2017). Mikrobiota jelitowa – klucz do zrozumienia patofizjologii jadłowstrętu psychicznego? *Psychiatria Polska*, 51, 859-870.
23. Komorowska-Szczepańska W., Plata A., Podgórska M. (2016). Problem zaburzeń odżywiania. W: M. Podgórska (Red.), *Żywnienie a środowisko* (60-69). Gdańsk, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Zarządzania.
24. Krauss H. (Red.). (2019). *Fizjologia żywienia*. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
25. Kucharska K., Grigo-Skrzypek A., Bonder E., Danielak J., Kostecka B. (2018). Stres a zaburzenia odżywiania się – nowe wyzwania terapeutyczne. *Psychiatria Po Dyplomie*, 15(2), 1-7.
26. Michalska A., Szejko N., Jakubczyk A., Wojnar M. (2016). Niespecyficzne zaburzenia odżywiania się – subiektywny przegląd. *Psychiatria Polska*, 50(3), 497-507.
27. Mikołajczyk E., Samochowiec J. (2004). Cechy osobowości u pacjentek z zaburzeniami odżywiania. *Psychiatria*, 1, 91-95.

28. Możdżonek P., Antosik K. (2017). Kreowanie trendów dietetycznych przez media i ich wpływ na rozwój zaburzeń odżywiania się. *Pielęgniarstwo i Zdrowie Publiczne*, 7(2), 159-164.
29. Mroczkowska D. (2012). Postrzeganie i rozumienie zaburzeń jedzenia – fakty i mity. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 6(2), 82-91.
30. Mróz M. W., Korek E. (2020). Przegląd niespecyficznych zaburzeń odżywiania. *Neuropsychiatria & Neuropsychology*, 15(1–2), 42-50.
31. Nowogrodzka A., Piasecki B. (2012). Zaburzenia odżywiania – różnice międzypłciowe. *Nowiny Lekarskie*, 81, 4, 381-385.
32. Ogden J. (2011). *Psychologia odżywiania się. Od zdrowych do zaburzonych zachowań żywieniowych*. Kraków, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
33. Rabe-Jabłońska J., Pawełczyk T., Żechowski C., Jarema M. (2008). Standardy leczenia zaburzeń odżywiania. *Psychiatria i Psychologia Kliniczna*, 8(1), 20-40.
34. Seligman M., Walker E., Rosenhan D. (2003). Zaburzenia wczesnodziecięce. W: Seligman M., Walker E., Rosenhan D. (Red.), *Psychopatologia* (363-369). Poznań, Wydawnictwo Zysk i S-ka.
35. Strober M., Lampert C., Morrel W., Borroughs J., Jacobs C. (1990). A controlled family study of anorexia nervosa: Evidence of familial aggregation and lack of shared transmission in affective disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 9, 239-253.
36. Świątkowska K. (2022). W poszukiwaniu skutecznych metod profilaktyki zaburzeń odżywiania — wykorzystanie indukcji dysonansu poznawczego. *Przegląd literatury. Psychiatrii/Psychiatria*, 19(1), 58-65.
37. Treasure J., Claudino A. M., Zucker N. (2010). Eating disorders. *Lancet* 375, 583-593.
38. Turner P.G., Lefevre C.E. (2017). Instagram use is linked to increased symptoms of orthorexia nervosa. *Eating and Weight Disorders – Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, 22(1), 277-284.
39. Wade T. D., Tiggemann M., Bulik C. M., Fairburn C. G., Wray N. R., Martin N. G. (2008). Shared temperament risk factors for anorexia nervosa: A twin study. *Psychomatic Medicine*, 70(2), 239-244.
40. Warchał M. (Red.). (2016). *Cywilizacja zdrowia*. Wydawnictwo e-bookowo.
41. Wasik M. (2018). Obraz samego siebie kształtowany poprzez środki masowego przekazu oraz rodzinę jako czynniki predysponujące do występowania zaburzeń odżywiania. *Rynek – Społeczeństwo – Kultura*, 2(28), 51-54.
42. Wronka M., Jezierska-Kazberuk M. (2011). Świat porcelanowych motyli. Blogi internetowe o tematyce odchudzającej jako źródło informacji o zaburzeniach odżywiania. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 2, 102–112.
43. [https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1).

## **The most common mental eating disorders and their potential causes**

### **Abstract**

Eating disorders are a widespread and growing problem. There is no unambiguous cause, although cultural factors, including the role of the media, genetic, family and individual predisposition may all play a role. Whatever the cause, these disorders can have very dangerous consequences, so prompt diagnosis and treatment are extremely important. The patient's own motivation and the support he or she can count on from his or her environment also play an important role. It should be noted that psychotherapy plays the most important role in the treatment of eating disorders with a psychological basis. Nutritional intervention, including nutritional counselling, can be an indispensable support for therapy. However, in order to be effective, nutritional treatment must be highly tailored to the individual patient, his or her age, health status, food preferences, and current deficiencies. This paper presents the most common nutritional disorders and their potential causes.

## Wpływ dodatku liofilizowanego mięszu czerwonej pitaji (*Hylocereus undatus*) na stabilność barwy pieczeni wieprzowej

Paulina Kęska, Joanna Stadnik\*, Katarzyna Mazurek, Szymon Czerniak, Patrycja Gazda,  
Łukasz Siłka

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,  
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego  
\*Autor korespondencyjny: joanna.stadnik@up.lublin.pl

### Streszczenie

W niniejszym badaniu analizowano wpływ dodatku liofilizowanego mięszu pitaji (*H. undatus*) na barwę modelowej pieczeni wieprzowej. Odnotowano wzrost zawartości barwników hemowych, żelaza hemowego i mioglobiny oraz spadek metmioglobiny w próbach z 0,5% oraz 2,5% dodatkiem liofilizowanego mięszu pitaji po 21 dniach chłodniczego przechowywania. Jednocześnie próby te cechowały się ciemniejszą barwą, w odniesieniu do próby kontrolnej, a stosowany zabieg technologiczny nie wpływał na udział barwy czerwonej ( $a^*$ ) i barwy żółtej ( $b^*$ ) wyrobów mięsnych. Stosowanie wyższych dawek liofilizatu, tj. 2,5% oraz 4,0% wiązało się ze zwiększoną zawartością metmioglobiny, obniżeniem jasności (P4.0 i P2.5) oraz udziału barwy czerwonej (P4.0 do 7 dnia chłodniczego przechowywania) oraz wzrostem udziału barwy żółtej (P4.0 i P2.5) modelowych wyrobów, w odniesieniu do wariantu kontrolnego.

**Słowa kluczowe:** pitaja, *Hylocereus undatus*, barwa, pieczeń wieprzowa

### 1. Wprowadzenie

Rośliny są bogate w związki bioaktywne, głównie polifenole, które stanowią jedną z najlepiej poznanych grup związków o silnym działaniu przeciwutleniającym. W badaniach naukowych wielokrotnie wykazano, że dodatek roślinny bogaty w polifenole może być dobrym zamiennikiem syntetycznych przeciwutleniaczy w produktach mięsnych, dzięki poprawie stabilności oksydacyjnej lipidów i białek, stabilizacji parametrów barwy i trwałości mikrobiologicznej. Jednocześnie możliwe jest ograniczenie wykorzystanie związków azotu bez wpływu na ich cechy sensoryczne i trwałość przechowalniczą produktu (Shah i in. 2014, Bellucci i in. 2022).

Czerwona pitaja (ang. dragon fruit; smoczy owoc) to tropikalny owoc należący do rodziny *Cactaceae*, rodzaju *Hylocereus*. W handlu występują głównie trzy odmiany tej rośliny, różniące się ubarwieniem skórki i mięszu: *Hylocereus undatus* (o białym mięszu i czerwonej skórce), *H. polyrhizus* (o czerwonej skórce i czerwonym mięszu) oraz *H. megalanthus* (o żółtej skórce i czerwonym mięszu) (Zakaria i in. 2022). Smoczy owoc ze względu na bogactwo składników odżywczych i stosunkowo niską kaloryczność uznawany jest za produkt bardzo wartościowy z dietetycznego punktu widzenia. Do związków bioaktywnych zawartych w tym owocu zalicza się: witaminę C i E, błonnik pokarmowy,



witaminy, składniki mineralne (magnez, wapń, fosfor i potas), betacyjaninę, polifenole (kwas p-kumarowy, kwas protokatechowy, kwas wanilinowy, kwas galusowy, kwas syringowy i kwas p-hydroksybenzoesowy) (Choo i Young 2011, Le 2022, Nishikito i in. 2023). Zawartość poszczególnych składników może się różnić w zależności od części morfologicznej rośliny i jej odmiany. Przykładowo badania wykazały większy udział polifenoli w ekstraktach ze skórek owoców odmiany *H. polyrhizus* niż w przypadku *H. undatus*. Z kolei skórka owoców wykazuje właściwości przeciwbakteryjne i przeciwutleniające (głównie ze względu na obecność betacyjanin), ale także może być stosowana jako naturalny barwnik (szczególnie owoce o czerwonej skórce) lub źródło pektyn.

Stosowanie w produktach pochodzenia zwierzęcego dodatków roślinnych, poza oczekiwany wpływami właściwościami odżywczymi i funkcjonalnymi, nie może mieć negatywnego wpływu na ich podstawowe parametry związane z akceptowalnością konsumentką (barwa, zapach), wartością odżywczą i bezpieczeństwem w całym okresie użytkowania. Dane literaturowe wskazują na możliwość wykorzystania smoczego owocu do wzbogacania żywności pochodzenia zwierzęcego. Przykładem może być dodawanie różnych części owoców pitaji do produktów mlecznych (Dianasari i in. 2020, Susanti i in. 2022), mięsa drobiowego (Rahmah i Choirivah 2022, Madame i in. 2020, Lubis i in. 2020), wołowiny (Manihuruk i in. 2017), wieprzowiny (Cunha i in. 2018, Bellucci i in. 2021, Cunha i in. 2021) i baraniny (Xin i in. 2022) w celu zmniejszenia utleniania tłuszczów, działania antybakteryjnego i barwotwórczego.

Celem niniejszego doświadczenia była ocena stabilności barwy modelowej pieczeni wieprzowej fortyfikowanej liofilizowanym mięszem pitaji (0,5%; 1,5%; 2,5%; 4,0%) podczas 21 dni chłodniczego przechowywania.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Przygotowanie wyrobu modelowego

Materiał roślinny (owoce pitaji) pozyskano z lokalnego sklepu. Przed użyciem owoce umyto pod ciepłą bieżącą wodą i obrano. Otrzymaną miazgę (wraz z nasionami) zamrożono i liofilizowano (liofilizator Free Zone 12, Labconco Corporation, Kansas City, MO, USA) w temperaturze  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  i pod ciśnieniem 0,04 mbar, przez 72 godziny. Otrzymany proszek przechowywano w szczelnych pojemnikach, w temperaturze pokojowej, przed użyciem dodatkowo rozdrobniono w młynku koloidalnym otrzymując postać pudru.

Materiałem badawczym była modelowa pieczeń wieprzowa. Surowcem mięsnym była łopatka wieprzowa, wstępnie rozdrobniona nożem i peklowana (1,8% soli peklującej, 24 h,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Mięso następnie rozdrobniono za pomocą maszynki do mięsa o średnicy oczek 4 mm. Do farszu mięsnego dodano po 0,5% soli, pieprzu i czosnku, 4% wody oraz liofilizowany miąższ owoców pitaji (0-4,0%). Przygotowano następujące warianty badawcze:

- K – kontrolny (bez dodatku liofilizowanego miąższu pitaji),
- P0.5 – z 0,5% dodatkiem liofilizowanego miąższu pitaji,
- P1.5 – z 1,5% dodatkiem liofilizowanego miąższu pitaji,

- P2.5 – z 2,5% dodatkiem liofilizowanego mięszu pitaji,
- P4.0 – z 4,0% dodatkiem liofilizowanego mięszu pitaji.

Następnie aluminiowe formy napełniono farszem mięsnym (180 g) i pieczono w temperaturze 180 °C przez 45 minut. Po ochłodzeniu wszystkie produkty mięsne zamknięto szczelnie w woreczku PA/PE i umieszczono w lodówce (4 °C) na 21 dni.

## 2.2. Metody badań

Analiza barwy pieczonego produktu mięsnego opierała się na pomiarze wartości parametrów  $L^*$  (jasność),  $a^*$  (udział barwy czerwonej) i  $b^*$  (udział barwy żółtej) metodą odbiciową, przy użyciu spektrofotometru sferycznego 8200 Series (X-Rite). Pomiary prowadzono z uwzględnieniem połysku (SPIN) w zakresie pomiarowym  $\lambda = 360-740$  nm, przy wykorzystaniu standardowego źródła światła D65 oraz standardowego obserwatora kolorymetrycznego o polu widzenia 10°. Ogólną zawartość barwników hemowych w produkcie oznaczono metodą spektrofotometryczną opisaną przez Hornseya (1956). Zawartość (%) mioglobiny (Mb), metmioglobiny (MetMb) i oksymioglobiny (OksyMb) oznaczano metodą spektrofotometryczną za pomocą aparatu Nicole Evolution 300 BB firmy Thermo Elektron Corporation przy długości fal 525, 545, 565 i 572 nm, według metodyki podanej przez Krzywickiego (1982). Zawartość żelaza hemowego obliczono zgodnie z procedurą opisaną przez Clark i in. (1997).

Ocenę statystyczną wyników wykonano metodą analizy wariancji, a do określenia istotności różnic zastosowano test Tukey'a, na poziomie istotności  $P \leq 0,05$ . Do hierarchicznej analizy skupień (HCA) wykorzystano metodę Warda oraz odległość euklidesową jako miarę podobieństwa w analizie wielowymiarowej. Do analizy HCA zastosowano wybrane wyróżniki barwy, zaś wyniki przedstawiono w postaci dendrogramu (Statistica.13; StatSoft Poland). Doświadczenie przeprowadzono w dwóch partiach, w trzech powtórzeniach.

## 3. Wyniki i dyskusja

Barwa przetworów mięsnych jest głównym parametrem brany pod uwagę podczas oceny sensorycznej. Jest to aspekt warunkujący akceptowalność i pożądalność konsumpcyjną. Wyróżnik barwy przetworów mięsnych jest pochodną stężenia barwników hemowych zawartych w surowcu mięsnym oraz ich przemian podczas przetwarzania i przechowywania. W niniejszym badaniu nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w ogólnej zawartości barwników hemowych (OZB) w próbach bezpośrednio po wyprodukowaniu (tab. 1). Z kolei podczas przechowywania wyrobów modelowych w warunkach chłodniczych przez 14 dni zaobserwowano zmniejszenie poziomu OZB (w przypadku wariantu K oraz P4.0 i P2.5), natomiast po 21 dniach magazynowania zanotowano jego wzrost. Trend ten był zauważalny wcześniej w przypadku wariantów o niższej stosowanej dawce liofilizatu, tj. P1.5 oraz P0.5, gdzie intensywny wzrost OZB następował już w 14 dniu chłodniczego przechowywania. Opisane tendencje były tożsame w przypadku oznaczania zawartości żelaza hemowego.

**Tabela 1.** Ogólna zawartość barwników hemowych oraz zawartość żelaza hemowego w modelowych pieczeniach wieprzowych fortyfikowanych liofilizowanym mięszem pitaji podczas przechowywania

Parametr	Czas (dni)	Wariant produktu					
		K	P4.0	P2.5	P1.5	P0.5	
OZB (mg/kg)	1	199,47 <sup>aA</sup> ± 9,84	189,04 <sup>aA</sup> ± 8,92	200,37 <sup>aAB</sup> ± 9,06	200,33 <sup>aA</sup> ± 0,79	196,29 <sup>aA</sup> ± 2,08	
		178,16 <sup>acB</sup> ± 0,36	189,04 <sup>bA</sup> ± 2,72	187,23 <sup>bB</sup> ± 0,79	184,96 <sup>bcB</sup> ± 2,72	182,69 <sup>cb</sup> ± 0,79	
	7	178,61 <sup>aB</sup> ± 0,79	181,79 <sup>aA</sup> ± 3,42	166,37 <sup>aC</sup> ± 3,42	242,53 <sup>bc</sup> ± 11,32	277,89 <sup>bc</sup> ± 4,08	
		198,56 <sup>aA</sup> ± 5,93	240,72 <sup>bB</sup> ± 3,85	209,89 <sup>aA</sup> ± 6,71	256,13 <sup>bc</sup> ± 13,42	266,11 <sup>cd</sup> ± 0,79	
	Żelazo hemowe (mg/kg)	1	17,59 <sup>abA</sup> ± 0,87	16,67 <sup>abA</sup> ± 0,79	17,67 <sup>abAB</sup> ± 0,80	18,99 <sup>bA</sup> ± 0,70	17,31 <sup>bc</sup> ± 0,18
			15,71 <sup>acB</sup> ± 0,12	16,67 <sup>bA</sup> ± 0,24	16,51 <sup>bB</sup> ± 0,07	16,31 <sup>bcB</sup> ± 0,24	16,11 <sup>bB</sup> ± 0,07
		7	15,75 <sup>aB</sup> ± 0,07	16,03 <sup>aA</sup> ± 0,30	14,67 <sup>ac</sup> ± 0,30	21,39 <sup>bc</sup> ± 1,00	21,58 <sup>bc</sup> ± 0,36
			17,51 <sup>aA</sup> ± 0,52	14,15 <sup>bB</sup> ± 1,22	18,51 <sup>aA</sup> ± 0,59	22,59 <sup>bc</sup> ± 1,18	23,47 <sup>cd</sup> ± 0,07

Objaśnienia: OZB – ogólna zawartość barwników hemowych; <sup>a-c</sup> wartości oznaczone różnymi małymi literami (pomiędzy wariantami) różnią się istotnie statystycznie; <sup>A-D</sup> wartości oznaczone różnymi wielkimi literami (czas przechowywania) różnią się istotnie statystycznie

Mioglobina w świeżym mięsie występuje w trzech formach redoks, jako: dezoksymioglobina (DMb), oksymioglobina (OMb) i metmioglobina (MMb), zaś jej forma zależy od obecności ligandu połączonego z atomem żelaza i stopniem jego utlenienia (Fe<sup>2+</sup> lub Fe<sup>3+</sup>). Forma DMb jest barwnikiem, w którym żelazo hemowe jest w postaci żelazawej (Fe<sup>2+</sup>) (nie zawiera ligandu przy szóstym wiązaniu koordynacyjnym), co odpowiada za purpurowo-czerwoną barwę mięsa świeżego. Oksymioglobina to utlenowana forma mioglobiny (nadal w postaci Fe<sup>2+</sup>), w której tlen cząsteczkowy jest związany z szóstym wiązaniem koordynacyjnym żelaza hemowego, zaś sam barwnik ma odcień jasnorożowoczerwony. Gdy obie żelazawe pochodne mioglobiny (Fe<sup>2+</sup>) zostaną utlenione do formy żelazowej (Fe<sup>3+</sup>), barwnik ulega przemianie w formę MMb o brunatnej barwie. W niniejszym badaniu zawartość mioglobiny była wyższa bezpośrednio po wyprodukowaniu w wariantach o niższej zawartości dodatku roślinnego (P1.5 oraz P0.5) w porównaniu do pozostałych wariantów badawczych (tab. 2). Wiązało się to równocześnie z niższą zawartością utlenionej formy mioglobiny (MetMb), odpowiedzialnej za niepożądaną zmianę barwy. Zjawisko to wynikać może z dodatku substancji o charakterze przeciwutleniającym, obecnych w mięszu pitaji, co wpływa na stabilizację żelaza w cząsteczce hemu na drugim stopniu utlenienia (Fe<sup>2+</sup>). Przeciwdziała to powstawaniu szaro-brunatnej metmioglobiny, w centrum której znajduje się pierścień porfirynowy hemu i żelazo na trzecim stopniu utlenienia (Fe<sup>3+</sup>) oraz

uwalnianiu żelaza z układu porfirynowego mioglobiny (Wójciak i in. 2014). Wcześniejsze badania wykazały, że wodny ekstrakt z liofilizowanego mięszu *Hylocereus undatus* wykazuje właściwości przeciwutleniające *in vitro*, szczególnie wobec kationorodnika ABTS<sup>•+</sup>, co przypisano obecności polifenoli (Kęska i in. 2023). Jednak zwiększenie zastosowanej dawki liofilizatu wiązało się z większą ilością MetMB, co z kolei sugeruje zaawansowanie procesu utleniania w produkcie (szczególnie wariantach P4.0 oraz P2.5), mimo zwiększonej podaży dodatku roślinnego bogatego w związki o charakterze przeciwutleniającym. Jak wykazali Laughton i in. (1989), pochodzące z roślin związki fenolowe, gossypol, kwercetyna i mirycetyna są silnymi inhibitorami indukowanej żelazem peroksydacji lipidów. Jednakże autorzy zauważyli, że fenole ulegają utlenieniu tworząc rodnik ponadtlenkowy, który następnie wspomaga wytwarzanie rodników hydroksylowych ( $\cdot\text{OH}$ ) z  $\text{H}_2\text{O}_2$  w obecności  $\text{Fe}^{3+}$ . Dlatego też związki te mogą w pewnych warunkach reakcji wykazywać działanie prooksydacyjne i nie można ich w uproszczeniu sklasyfikować jako „przeciwutleniacze”. Również Sakihama i in. (2002) wskazali, że fitofenole mogą w pewnych warunkach działać prooksydacyjnie. Na przykład flawonoidy i kwasy dihydroksycynamonowe mogą uszkadzać DNA poprzez wytwarzanie rodników w obecności Cu i  $\text{O}_2$ . Rodniki fenoksyłowe mogą również inicjować peroksydację lipidów. Ostatnio odkryto, że Al, Zn, Ca, Mg i Cd stymulują peroksydację lipidów indukowaną rodnikami fenoksyłowymi. Pieczona wieprzowina, fortyfikowana liofilizowanym mięszem owoców pitai charakteryzowała się zwiększonym, zależnym od wielkości dawki, udziałem Fe, a także Ca i Mg w produkcie (Kęska i in. 2023), co mogło sprzyjać powstawaniu wolnych rodników w produkcie. Potwierdzeniem tego zjawiska są obserwacje prezentowane przez Kęska i in. (2023), którzy wykazali wzrost zawartości substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym, będącymi markerami peroksydacji lipidów w produktach o wyższych dawkach (2,5% i 4,0%) liofilizowanego mięszu pitaji. Warto także zauważyć, że stosowany w niniejszym badaniu liofilizat oprócz mięszu zawierał także zasobne w oleje nasiona (Huang i in. 2021; Pérez-Orozco i in. 2022), co mogło przyczynić się do intensywniejszych przemian oksydacyjnych w wariantach o zwiększonej ilości dodatku roślinnego.

**Tabela 2.** Zawartość (%) mioglobiny, oksymoglobiny i metmioglobiny w modelowych pieczeniach wieprzowych

Parametr	Czas [dni]	Wariant produktu					
		K	P4.0	P2.5	P1.5	P0.5	
Mb (%)	1	41,71 <sup>aA</sup> ± 0,02	41,05 <sup>aA</sup> ± 0,67	40,91 <sup>aA</sup> ± 1,03	42,25 <sup>aAC</sup> ± 1,34	47,29 <sup>aAC</sup> ± 1,33	
		43,08 <sup>aAB</sup> ± 1,22	44,36 <sup>aB</sup> ± 0,49	44,67 <sup>aB</sup> ± 0,17	42,59 <sup>aB</sup> ± 0,24	42,91 <sup>aB</sup> ± 1,14	
	7	41,86 <sup>aA</sup> ± 0,64	42,90 <sup>aB</sup> ± 0,78	46,03 <sup>aB</sup> ± 1,10	43,47 <sup>aCB</sup> ± 3,51	50,23 <sup>aC</sup> ± 2,29	
		44,30 <sup>aB</sup> ± 0,30	44,39 <sup>aB</sup> ± 0,34	42,89 <sup>aA</sup> ± 0,09	50,90 <sup>aA</sup> ± 7,98	44,77 <sup>aAB</sup> ± 0,27	
	OxyMb (%)	1	18,86 <sup>aA</sup> ± 0,02	18,07 <sup>aA</sup> ± 1,44	18,27 <sup>aA</sup> ± 0,38	23,72 <sup>ba</sup> ± 1,26	26,21 <sup>ba</sup> ± 0,90
			18,04 <sup>aA</sup> ± 1,12	24,27 <sup>bb</sup> ± 0,45	21,02 <sup>cb</sup> ± 1,19	20,08 <sup>aca</sup> ± 1,30	19,94 <sup>acb</sup> ± 0,54
		7	18,07 <sup>aA</sup> ± 3,00	18,84 <sup>aA</sup> ± 0,85	12,56 <sup>bc</sup> ± 0,87	22,87 <sup>aA</sup> ± 2,23	21,44 <sup>aB</sup> ± 0,52
			18,00 <sup>aA</sup> ± 1,50	19,59 <sup>aA</sup> ± 0,37	19,29 <sup>aA</sup> ± 0,72	24,14 <sup>aA</sup> ± 6,14	20,19 <sup>aB</sup> ± 0,53
MetMb (%)	1	39,42 <sup>aA</sup> ± 0,02	40,88 <sup>aA</sup> ± 1,52	40,82 <sup>aA</sup> ± 1,15	34,03 <sup>ba</sup> ± 0,24	26,49 <sup>ba</sup> ± 0,57	
		38,88 <sup>aAB</sup> ± 2,24	31,38 <sup>bb</sup> ± 0,37	34,31 <sup>bb</sup> ± 1,06	37,33 <sup>aB</sup> ± 1,14	37,15 <sup>aB</sup> ± 1,22	
	7	40,07 <sup>aAB</sup> ± 2,40	38,27 <sup>aAC</sup> ± 1,61	41,41 <sup>aA</sup> ± 1,13	33,66 <sup>aA</sup> ± 4,56	38,34 <sup>aB</sup> ± 2,67	
		37,70 <sup>aB</sup> ± 1,03	36,02 <sup>aC</sup> ± 0,58	37,82 <sup>aC</sup> ± 0,68	34,96 <sup>baB</sup> ± 1,10	35,04 <sup>bb</sup> ± 0,53	

Objaśnienia: Mb – mioglobina; OxyMb – oksymoglobina; MetMb – metmioglobina; <sup>a-c</sup> wartości oznaczone różnymi małymi literami (pomiędzy wariantami) różnią się istotnie statystycznie; <sup>A-C</sup> wartości oznaczone różnymi wielkimi literami (czas przechowywania) różnią się istotnie statystycznie

Zmiany biochemiczne składników mięsa odpowiedzialnych za jego barwę, w tym szczególnie różnych form mioglobiny, zachodzą intensywnie podczas przetwarzania technologicznego i przechowywania produktu finalnego. Odzwierciedleniem tych przemian może być zmiana barwy wyrobów z mięsa. Będzie to z kolei rzutować na akceptowalność wyrobu podczas oceny wizualnej. Jak wykazały wyniki badań prezentowane w tabeli 3, zastosowanie dodatku liofilowanego mięszu pitaji powodowało ciemnienie wyrobu mięsnego. W szczególności 4% dodatek liofilizatu obniżył wartość parametru L\* (P < 0,05). Z kolei produkt z 0,5% dodatkiem liofilizowanych owoców pitaji nie różnił się istotnie jasnością (L\*) od produktu kontrolnego (K) w początkowym okresie przechowywania (do 7 dnia), natomiast po kolejnych 7 i 14 dniach magazynowania stwierdzono istotne jego obniżenie (P < 0,05). Do odmiennych obserwacji doszli Madane i in. (2020), którzy odnotowali, bezpośrednio po wyprodukowaniu, znaczny wzrost jasności (L\*) nuggetsów drobiowych fortyfikowanych suszem ze skórki *H. undatus* (w ilości 1.5% oraz 3%), w porównaniu

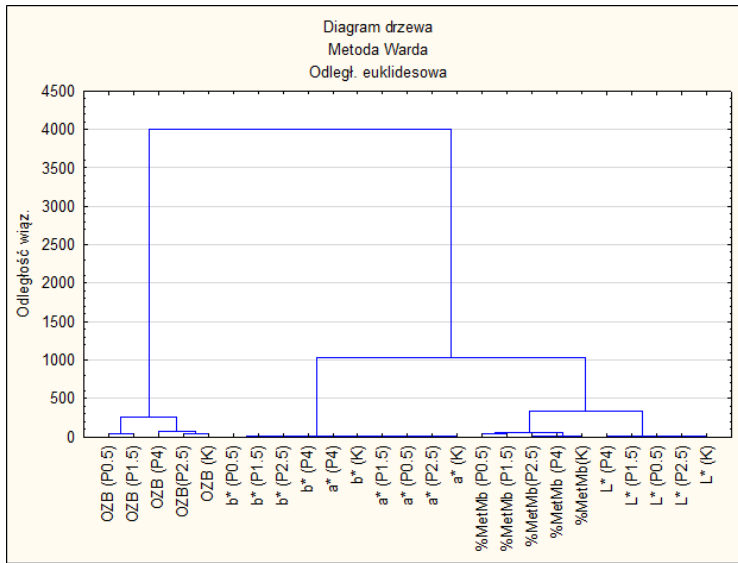
do kontroli. Zmniejszenie jasności poddanych obróbce nuggetsów z kurczaka było jeszcze większe (aż do 27%) w 10-tym dniu badania, w porównaniu z produktem kontrolnym. Tak odmienna tendencja wynikać może z różnej zawartości błonnika roślinnego pomiędzy skórką a mięszem owocu. Błonnik roślinny, zatrzymując wodę w produkcie mięsnym, wpływa na jego jasność. Należy zaznaczyć, że obserwowane w tym badaniu trendy odnotowane dla parametru jasności ( $L^*$ ) korespondują z wynikami zawartości MetMb odpowiedzialnej za powstawanie brunatnej barwy produktu mięsnego. Jak przedstawiono na rysunku 1, jasność wyrobu w dużym stopniu zależała od zawartości MetMB, zaś oba parametry tworzyły wspólny klaster na dendrogramie (rys. 1).

Poziom parametru barwy  $a^*$  odnoszącego się do intensywności koloru czerwonego przedstawiono w tabeli 3. Bezpośrednio po wyprodukowaniu odnotowano zmniejszenie intensywności koloru czerwonego w wariacie P4 ( $P < 0,05$ ). W przypadku wariantów z niższymi stosowanymi dawkami liofilizatu (P0.5, P1.5 oraz P2.5) obserwowano wzrost czerwoności produktów względem próby kontrolnej (K), zmiany te jednak nie były istotne statystycznie ( $P > 0.05$ ). Zależność ta była także odnotowana w 7 dniu chłodniczego przechowywania wyrobów mięsnych fortifikowanych liofilizowanym mięszem z owoców pitaj, podczas gdy od 14 dnia przechowywania stosowany zabieg technologiczny nie wpływał na parametr barwy  $a^*$ .

**Tabela 3.** Zmiany parametrów barwy ( $L^*$ ,  $a^*$  oraz  $b^*$ ) modelowych pieczeni wieprzowych fortyfikowanych liofilizowanym mięszem pitaji, podczas przechowywania

Parametr	Czas [dni]	Wariant produktu				
		K	P4.0	P2.5	P1.5	P0.5
$L^*$	1	61,79 <sup>aAB</sup> ±	57,72 <sup>ba</sup> ±	59,60 <sup>abA</sup> ±	59,50 <sup>ba</sup> ±	60,11 <sup>aA</sup> ±
		1,87	2,24	0,68	2,08	1,56
	7	61,81 <sup>aAB</sup> ±	57,74 <sup>ba</sup> ±	59,62 <sup>bcA</sup> ±	62,33 <sup>ab</sup> ±	60,64 <sup>acA</sup> ±
		1,78	2,24	0,67	0,84	1,88
	14	63,56 <sup>aA</sup> ±	61,38 <sup>aA</sup> ±	62,00 <sup>ab</sup> ±	58,08 <sup>ba</sup> ±	55,08 <sup>cb</sup> ±
		1,51	1,44	1,57	1,29	2,69
	21	61,02 <sup>ab</sup> ±	56,42 <sup>ba</sup> ±	56,57 <sup>bc</sup> ±	59,46 <sup>aA</sup> ±	56,42 <sup>bb</sup> ±
		1,28	2,55	2,02	1,43	1,95
$a^*$	1	7,77 <sup>aA</sup> ±	6,65 <sup>ba</sup> ±	7,82 <sup>aA</sup> ±	8,65 <sup>aA</sup> ±	8,57 <sup>aA</sup> ±
		1,09	0,93	0,35	0,87	0,82
	7	7,79 <sup>aA</sup> ±	6,67 <sup>ba</sup> ±	7,84 <sup>aA</sup> ±	8,47 <sup>aA</sup> ±	8,71 <sup>aA</sup> ±
		1,03	0,88	0,33	0,41	0,76
	14	8,21 <sup>aA</sup> ±	7,54 <sup>aA</sup> ±	7,71 <sup>aA</sup> ±	8,45 <sup>aA</sup> ±	8,62 <sup>aA</sup> ±
		1,28	0,83	0,82	0,89	1,03
	21	7,77 <sup>aA</sup> ±	7,21 <sup>aA</sup> ±	8,24 <sup>aA</sup> ±	9,53 <sup>bb</sup> ±	8,14 <sup>aA</sup> ±
		1,06	0,76	0,65	0,28	0,92
$b^*$	1	8,67 <sup>acAB</sup> ±	9,75 <sup>bcA</sup> ±	10,11 <sup>ba</sup> ±	9,41 <sup>abcA</sup> ±	9,07 <sup>ca</sup> ±
		1,27	0,69	0,55	0,43	0,75
	7	8,69 <sup>aAB</sup> ±	9,77 <sup>ba</sup> ±	10,13 <sup>ba</sup> ±	7,38 <sup>cb</sup> ±	7,89 <sup>ac</sup> ±
		1,21	0,66	0,52	0,77	0,54 <sup>B</sup>
	14	8,21 <sup>aA</sup> ±	7,71 <sup>ab</sup> ±	8,06 <sup>ab</sup> ±	9,71 <sup>ba</sup> ±	9,25 <sup>ba</sup> ±
		0,85	0,82	0,40	1,28	1,01
	21	9,86 <sup>abB</sup> ±	10,79 <sup>bc</sup> ±	9,62 <sup>aA</sup> ±	10,18 <sup>abA</sup> ±	9,65 <sup>aA</sup> ±
		0,47	0,81	1,11	0,53	0,87

Objaśnienia: <sup>a-c</sup> wartości oznaczone różnymi małymi literami (pomiędzy wariantami) różnią się istotnie statystycznie; <sup>A-C</sup> wartości oznaczone różnymi wielkimi literami (czas przechowywania) różnią się istotnie statystycznie



**Rysunek 1.** Dendrogram prezentujący podobieństwa wybranych parametrów związanych z barwą wyrobów

#### 4. Podsumowanie

Prezentowane w niniejszym badaniu wyniki oceny stabilności barwy modelowej pieczeni wieprzowej fortyfikowanej liofilizowanym mięszem pitaji wskazały na możliwość zastosowania tego dodatku do produkcji wyrobów mięsnych. Niemniej jednak stosowanie wyższych dawek liofilizatu wiązało się z pogorszeniem barwy produktu, prawdopodobnie z powodu bardziej intensywnej zmiany oksydacyjnej, na co wskazuje wyższy udział metmioglobiny w wariantach badawczych z 4% (P4.0) oraz 2.5% (P2.5) dodatkiem liofilizatów. Uzyskane wyniki badań mogą w przyszłości być wykorzystane do opracowania receptury nowego, funkcjonalnego produktu mięsnego, o zwiększonej zawartości związków pochodzenia roślinnego o charakterze prozdrowotnym.

*Badania te były przeprowadzone w ramach projektu nr. RS/460/3/2022 realizowanego w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie.*

#### Literatura

1. Bellucci E. R. B., Bis-Souza C. V., Domínguez R., Bermúdez R., Barretto A. C. D. S. (2022). Addition of natural extracts with anti-oxidant function to preserve the quality of meat products. *Biomolecules*, 12(10), 1506.
2. Bellucci E. R. B., Munekata P. E., Pateiro M., Lorenzo J. M., da Silva Barretto A. C. (2021). Red pitaya extract as natural antioxidant in pork patties with total replacement of animal fat. *Meat Science*, 171, 108284.
3. Choo W. S., Yong W.K. (2011). Antioxidant properties of two species of *Hylocereus fruits*. *Advances in Applied Science Research*, 2(3), 418-425.



4. Clark E. M., Mahoney A. W., Carpenter C. E. (1997). Heme and total iron in ready-to-eat chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 124–126.
5. Cunha L. C., Monteiro M. L. G., da Costa-Lima B. R., Guedes-Oliveira J. M., Alves V. H., Almeida A. L., Toton L. V., Rosen-thal A., Conte-Junior C. A. (2018). Effect of microencapsulated extract of pitaya (*Hylocereus costaricensis*) peel on color, texture and oxidative stability of refrigerated ground pork patties submitted to high pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 49, 136-145.
6. Cunha L. C. M., Monteiro M. L. G., da Costa-Lima B. R. C., Guedes-Oliveira J. M., Rodrigues B. L., Fortunato A. R., Baltar J. D., Tonon R. V., Koutchma T., Conte-Junior C.A. (2021). Effect of microencapsulated extract of pitaya (*Hylocereus costaricensis*) peel on oxidative quality parameters of refrigerated ground pork patties subjected to UV-C radiation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15272.
7. Dianasari U., Malaka R., Maruddin F. (2020). Physicochemical quality of fermented milk with additional red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) skin. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 492, No. 1, p. 012050). IOP Publishing, 2020.
8. Hornsey H. C. (1956). The color of cooked cured pork, I. Estimation of the nitric oxide-heme pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7, 534–540.
9. Huang Y., Brennan M. A., Kasapis S., Richardson S. J., Brennan C. S. (2021). Maturation process, nutritional profile, bioactivities and utilisation in food products of red pitaya fruits: A Review. *Foods*, 10(11), 1-21.
10. Kęska P., Gazda P., Siłka Ł., Mazurek K., Stadnik J. (2023). Nutrition Value of Baked Meat Products Fortified with Lyophilized Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*). *Foods*, 12(19), 3550.
11. Krzywicki K. (1982). The determination of heme pigments in meat. *Meat Science*, 7, 29.
12. Loughton M. J., Halliwell B., Evans P. J., Robin J., Hault S. (1989). Antioxidant and prooxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin: effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochemical Pharmacology*, 38(17), 2859-2865.
13. Le N. L. (2022). Functional compounds in dragon fruit peels and their potential health benefits: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 2571-2580.
14. Lubis N., Agustiono J., Ismail D., Pradana T. G. (2020). Effect of red dragon fruit peels (*Hylocereus polyrhizus*) as a natural dye and preservatives on chicken nuggets. *International Journal of Research and Review*, 7(3), 168-174.
15. Madane P., Das A. K., Nanda P. K., Bandyopadhyay S., Jagtap P., Shewalkar A., Maity B. (2020). Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) peel as antioxidant dietary fibre on quality and lipid oxidation of chicken nuggets. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1449-1461.

16. Manihuruk F. M., Suryati T., Arief I. I. (2017). Effectiveness of the red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel extract as the colorant, antioxidant, and antimicrobial on beef sausage. *Media Peternakan*, 40(1), 47-54.
17. Nishikito D. F., Borges A. C. A., Laurindo L. F., Otoboni A. M. B., Direito R., Goulart R. D. A., Nicolau C. C. T., Fiorini A. M. R., Sinatora R. V., Barbalho S. M. (2023). Anti-inflammatory, antioxidant, and other health effects of dragon fruit and potential delivery systems for its bioactive compounds. *Pharmaceutics*, 15(1), 159.
18. Pérez-Orozco A. F., Sosa V. (2022). Comparative estimations of betalains and sugars in fruits of five species of *Selenicereus* (*Cactaceae*). *Acta Botanica Mexicana*, 129, 1-9.
19. Rahmah L., Choiriyah N. A. (2022). Increasing levels of fibre and mineral (Fe, Ca, and K) in chicken meatballs added dragon fruit peel and oyster mushroom. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 951, No. 1, p. 012093). IOP Publishing. 2022.
20. Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C., Yamasaki H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177(1), 67-80.
21. Shah M. A., Bosco, S. J. D., Mir S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21-33.
22. Susanti S., Legowo A. M., Mulyani S., Pratama Y. (2022). Characteristics of yogurt ice cream fortified with red dragon fruit puree as anti-obesity functional food. *Journal Gizi dan Pangan*, 17(2), 115-122.
23. Wójciak K. M., Dolatowski Z. J., Kołożyn-Krajewska D. (2014). Stabilność oksydacyjna ekologicznej kiełbasy surowo dojrzewającej z dodatkiem probiotycznego szczepu *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 i serwatki kwasowej. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 21(2), 93-109.
24. Xin K. Q., Ji X. Y., Guo Z., Han L., Yu Q. L., Hu B. (2022). Pitaya peel extract and lemon seed essential oil as effective sodium nitrite replacement in cured mutton. *LWT*, 2022, 160 (15), 113283.
25. Zakaria N. N. A., Mohamad A. Z., Harith Z. T., Rahman N. A. (2022). Antioxidant and antibacterial activities of red (*Hylocereus polyrhizus*) and white (*Hylocereus undatus*) dragon fruits. *Journal of Tropical Resources and Sustainable Science*, 10(1), 9-14.

### **The influence of the addition of freeze-dried dragon fruit pulp (*Hylocereus undatus*) on the color stability of baked pork**

#### **Abstract**

This study demonstrated the effect of the addition of freeze-dried *H. undatus* pulp on the color of a model baked pork. There was an increase in the concentration of heme pigments, heme iron and myoglobin and a decrease in metmyoglobin in samples with 0.5% and 2.5% addition of freeze-dried dragon fruit pulp after 21 days of refrigerated

storage. At the same time, these samples were characterized by a darker color compared to the control sample. The technological treatment used did not affect the redness or yellowing of meat products. The use of higher doses of lyophilizate, i.e. 2.5% and 4.0%, was associated with increased metmyoglobin content, decreased lightness (P4.0 and P2.5) and redness (P4.0 – up to 7 days of refrigerated storage) and increased yellowness (P4.0 and P2.5) model products in relation to the control variant.

## Zawartość składników mineralnych w produktach zbożowych dostępnych na polskim rynku

Aleksandra Kuchar, Sławomir Pietrzyk\*, Jacek Rożnowski

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności*

*\*Autor korespondencyjny: slawomir.pietrzyk@urk.edu.pl*

### Streszczenie

Produkty zbożowe są najczęściej spożywanymi artykułami pochodzenia roślinnego na świecie, zatem ważne jest, aby stale monitorować i analizować ich wartość odżywczą, a zwłaszcza zawartość mikro- i makroelementów. Dlatego celem pracy było określenie zawartości składników mineralnych w mące i makaronach dostępnych na rynku polskim. Materiał do badań stanowiły mąki (kukurydziana, pszenna i żytnia) oraz makarony (w tym pełnoziarniste) wiodących producentów żywności. W materiale badanym oznaczono: zawartość wody i popiołu oraz zawartość sodu, potasu, magnezu, żelaza, wapnia. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zawartość wody w mąkach wynosiła 10-13%, a w makaronach – 8-12%. Mąka żytnia zawierała więcej składników mineralnych (tj. oznaczono w niej wyższą zawartość popiołu) niż pozostałe mąki. Makarony pełnoziarniste charakteryzowały się wyższą zawartością składników mineralnych niż pozostałe badane makarony. Zawartość składników mineralnych (sodu, potasu, wapnia, żelaza, magnezu) w badanych produktach była zróżnicowana i zależna od surowca użytego do produkcji.

**Słowa kluczowe:** ASA, składniki mineralne, mąki, makarony, wilgotność

### 1. Wprowadzenie

Zboża oraz produkty z nich wytworzone jako źródła dużej ilości skrobi i białka, pełnią niezwykle ważną rolę w diecie ludzkiej na całym świecie. Stanowią one istotny element diety człowieka również ze względu na zawarty w nich błonnik, składniki mineralne i związki przeciwutleniające (Poutanen 2012). Szacuje się, że w Polsce roczna produkcja/zużycie zbóż wynosi ok. 27-28 mln ton i z roku na rok zapotrzebowanie na ten surowiec stale się zwiększa. Najpopularniejszymi zbożami uprawianymi w naszym kraju są pszenica, jęczmień, żyto i owies. Zboża najczęściej wykorzystywane są jako surowiec do produkcji całej gamy wyrobów, m.in. mąk, makaronów, pieczywa, płatków, przekąsek, kasz, otrębów, pasz dla zwierząt (Górecka i in. 2017, Sułek i Jaśkiewicz 2016, topagrar.pl).

Najpopularniejszym produktem zbożowym wykorzystywanym w przemyśle spożywczym i domowej gastronomii jest mąka. Uznawana jest ona za jeden z najstarszych produktów spożywczych na świecie. Mąki można podzielić według różnych kryteriów, np. ze względu na zastosowanie (np. mąki konsumpcyjne), pochodzenie (np. mąki zbożowe), skład chemiczny (mąki bezglutenowe), barwę (np. mąki jasne). Polskie Normy uwzględniają podział mąk pszennych i żytnich ze względu na zawartość składników mineralnych

(PN-A-74032:2002, PN-A-74022:2003). Zgodnie z nim wyróżnia się mąki pszenne typu 450, 550, 650, 750, 1050, 1400, 1850, 2000, a mąki żytnie typy 500, 720, 1150, 1400 i 2000. Wynika z tego, że mąki typu 450 zawierają ok. 0,45% składników mineralnych, a mąki typu 2000 – więcej niż 2,0% składników mineralnych. Typ mąki decyduje też o jej przeznaczeniu; i tak mąka typ 450 jest przeznaczona do wypieku ciasta, tortów, mąka typ 650 do wyrobu ciasta do pizzy, a mąki typ 750 i wyższe do wyrobu pieczywa (np. 1850 graham lub 2000 razowy) (Szwedziak i in. 2018). Doskonałym surowcem do wyrobu mąki jest również kukurydza. Mąka kukurydziana zyskała swoją popularność w dietach bezglutenowych (z racji braku białek glutenowych w swoim składzie), jak również w dietach lekkostrawnych. Jest ona półproduktem/surowcem do wyrobu wielu produktów takich jak makarony, ciasta czy pieczywo (Czerwińska 2010, Noorfarahzilal i in. 2014).

Makaron, zaraz po pieczywie, jest najczęściej spożywanym produktem zbożowym na świecie. Za jego popularność odpowiadają wartość odżywcza, smak, dostępność, cena i łatwość w przygotowaniu. Produkt ten może występować w różnorodnych kształtach i wariantach, jest łatwy do przygotowania i serwowania. Makaron wytwarzany jest z mąki makaronowej lub semoliny (drobnoziarnisty produkt powstały ze zmielenia pszenicy twardej). Jest ona bogata w gluten i produkuje się ją z pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.). Do produkcji makaronu stosuje się czasami dodatki: jaja czy przyprawy (Bresciani i in. 2022, Carpentieri i in. 2022, Jurga 2010, Obuchowski i in. 2013).

Produkty zbożowe są popularnym pokarmem pochodzenia roślinnego. Istotne jest, aby monitorować i analizować ich wartość odżywczą. Celem pracy było zatem określenie zawartości składników mineralnych w mąkach i makaronach dostępnych na polskim rynku.

## 2. Materiał i metody

### 2.1. Materiał badany

Materiał do badań stanowiły mąki i makarony (kilku producentów), powszechnie wykorzystywane przez konsumentów, zakupione w sieciach handlowych. Były to mąki: pszenna tortowa typ 450, pszenna typ 480, pszenna krupczatka typ 500, żytnia typ 720 i kukurydziana oraz makarony: pszenny z mąki makaronowej, pszenny 100% durum, jajeczny, pełnoziarnisty 100% durum oraz pełnoziarnisty proso-len.

### 2.2. Metody badań

W badanym materiale wykonano:

- oznaczenie zawartości wody metodą suszarkową (PN-EN ISO 712:2012),
- oznaczenie zawartości popiołu metodą mineralizacji na sucho w temperaturze 900 °C (PN ISO 2171:1994),
- oznaczenie zawartości sodu, potasu, wapnia, magnezu i żelaza techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej (spektrometr absorpcji atomowej, Avanta Σ, GBC, Australia). Przed analizą próbki były mineralizowane na mokro w kwasie azotowym, w

temperaturze nie przekraczającej 275 °C. Badania zostały wykonane według norm PN-EN 15505:2009 oraz PN-EN 14084:2004.

Wszystkie oznaczenia zostały wykonane w trzech powtórzeniach. W celu stwierdzenia występowania statystycznie istotnych różnic przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji oraz wyliczono najmniejszą istotną różnicę (NIR) z wykorzystaniem testu Tukeya na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

### 3. Wyniki i dyskusja

Wilgotność mąki jest czynnikiem decydującym o jakości danej mąki. Mąka dobrej jakości powinna charakteryzować się zawartością wody poniżej 15%. Zarówno zbyt wysoka, jak i zbyt niska zawartość wody w mące ma negatywny wpływ na jej jakość. Zbyt wysoka zawartość wody w mące prowadzi do jej zbrylania, a także aktywowania enzymów, rozwoju drobnoustrojów i zmiany smaku, natomiast jeżeli wody jest zbyt mało, smak mąki może być gorzki (Szwedziak i in. 2018). W badanych mąkach zawartość wody wynosiła od 10% (w mące kukurydzianej) do 13% (w mące pszennej) (tab. 1), co świadczyło o dobrej jakości tych mąk, gdyż zawartość wody była poniżej 15%. Uzyskane wyniki są zbieżne z wynikami uzyskanymi przez Litwinek i in. (2017), którzy również stwierdzili, że wilgotność mąk handlowych dostępnych w Polsce (pszennej, żytniej i orkiszowej) wynosiła poniżej 15%. Zawartością wody poniżej 15% charakteryzowały się również mąki handlowe dostępne w innych krajach (Hruskova i Mahova 2002, Saeid i in. 2015).

W przypadku makaronów, wilgotność decyduje o ich przydatności przechowalniczej; zawartość wody powyżej 12% może przyczynić się do rozwoju pleśni, a gdy zawartość wody wynosi poniżej 6%, to zwiększa się kruchość takiego makaronu (Romankiewicz i in. 2014). Wszystkie badane makarony charakteryzowały się wilgotnością od 8 do 11% (tab. 1), co jest zgodne z wymaganiami zamieszczonymi w PN-A-74131:1999, gdzie zalecana jest wilgotność makaronów poniżej 12,5%. Ponadto należy zauważyć, że żaden z makaronów nie charakteryzował się wilgotnością poniżej 6%.

Na wykresach 1 i 2 przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości popiołu w mąkach i makaronach. Popiół jest parametrem decydującym o wartości żywieniowej produktów, gdyż jest miarą zawartości składników mineralnych w nich zawartych. W przypadku mąk najwyższą ilością popiołu charakteryzowała się mąka żytnia (prawie 0,9%), a najniższą – mąka kukurydziana (0,2%). Pozostałe mąki pszenne charakteryzowały się zawartością popiołu na zbliżonym poziomie, tj. 0,45-0,50%. Wyniki oznaczeń zawartości popiołu uzyskane dla mąk pszennych i żytniej były zgodne z deklaracją producenta.

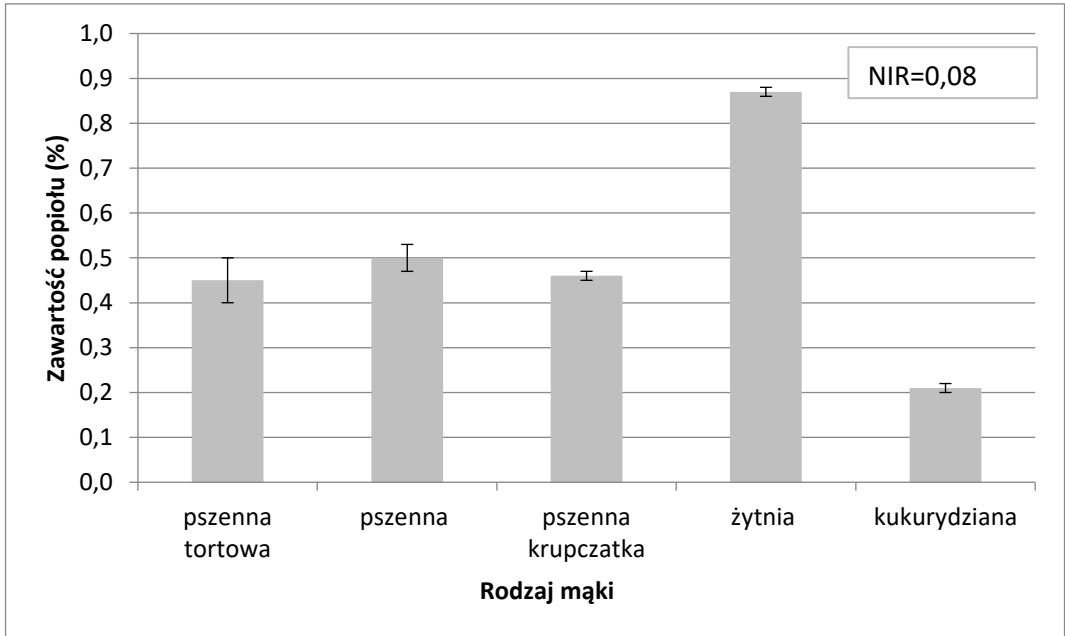
**Tabela 1.** Zawartość wody w mąkach i makaronach

Rodzaj mąki	Zawartość wody (%)	Rodzaj makaronu	Zawartość wody (%)
pszenna tortowa	12,97 ± 0,03	z mąki makaronowej	11,39 ± 0,08
pszenna	13,86 ± 0,09	100% durum	11,42 ± 0,02
pszenna krupczatka	11,14 ± 0,04	jajeczny	9,53 ± 0,11
żytnia	12,17 ± 0,02	pełnoziarnisty 100% durum	8,35 ± 0,03
kukurydziana	10,26 ± 0,01	pełnoziarnisty proso-len	8,83 ± 0,04
NIR <sub>(0,05)</sub>	0,13	NIR <sub>(0,05)</sub>	0,18

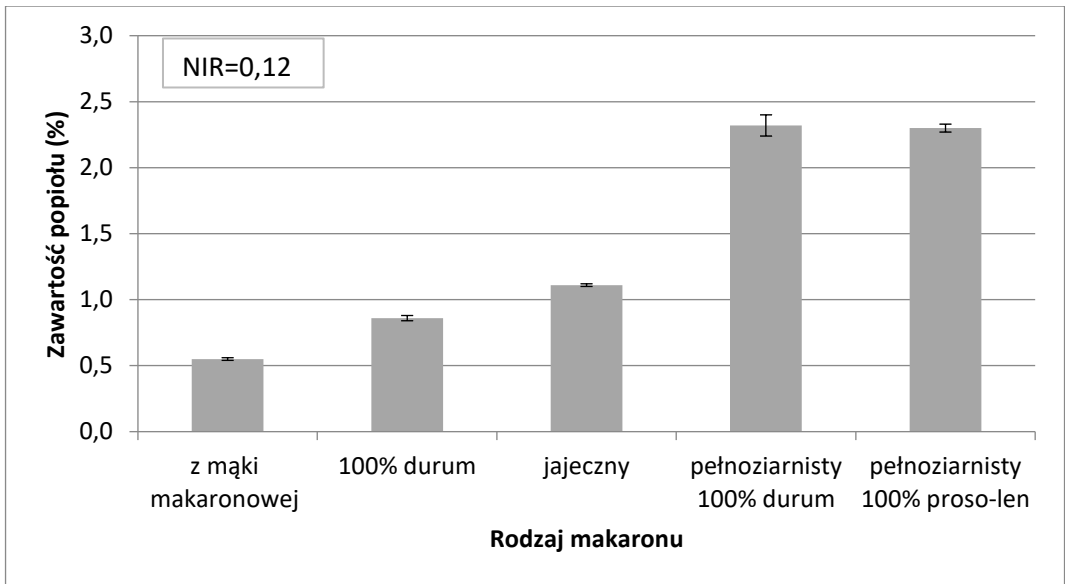
Objaśnienia: NIR – najmniejsza istotna różnica

Zawartość składników mineralnych w mąkach związana jest z rodzajem ich przemiału. Jeśli zastosowano przemiał złożony, to mąka jest bardziej oczyszczona i zawiera mniej składników mineralnych (Cappelli i Cini 2021, Jones i in. 2015). Zawartość popiołu w pszennych mąkach handlowych określali m.in. Cichoń i Ptak (2005) oraz Szwedziak i in. (2018), a w mąkach pszennych i żytnich – Litwinek i in. (2017). Uzyskali oni wyniki oznaczeń zawartości popiołu zbliżone do przedstawionych w pracy. Niska zawartość popiołu, jaką stwierdzono w mące kukurydzianej, świadczy o jej wysokim przemiele i efektywnym oczyszczeniu. Podobnie niskie wyniki oznaczeń zawartości popiołu na poziomie 0,2% w mące kukurydzianej uzyskali również Singh i in. (2003).

Spośród makaronów, najwyższą zawartością popiołu (2,3%) charakteryzowały się makarony wytworzone z mąki pełnoziarnistej (100% durum i 100% proso-len). Pozostałe makarony charakteryzowały się o wiele niższą zawartością popiołu, bo w zakresie od 0,5% do 1%. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że makarony wytworzone na bazie mąki pełnoziarnistej są bardziej zasobne w składniki mineralne niż makarony wytworzone na bazie mąki ze złożonego przemiału (Grembocka i in. 2011, Sobota i Dobosz 2010). Zawartość popiołu w makaronach wynoszącą od 0,6 do 1% oznaczyli również Romankiewicz i in. (2014).



a



b

**Rysunek 1.** Zawartość popiołu w mąkach (a) i w makaronach (b)

W związku z tym, że ważna jest nie tylko ilość zawartych składników mineralnych w produktach zbożowych, ale również ich rodzaj, dlatego oznaczono zawartość najważniejszych mikro- i makroskładników mineralnych w mąkach i w makaronach, a wyniki zaprezentowano w tabeli 2. Zawartość sodu była najniższa w mące tortowej i wynosiła blisko 8 mg/100 g produktu. W pozostałych mąkach zawartość tego pierwiastka była wyższa o



ponad 50%. W przypadku potasu można zauważyć, że wszystkie mąki pszenne charakteryzowały się zawartością tego pierwiastka na zbliżonym poziomie, w zakresie od 30 do 37 mg/100 g, natomiast mąki żytnia i kukurydziana zawierały blisko dwa razy więcej tego składnika mineralnego. W przypadku wapnia, jego zawartość była najniższa w mące kukurydzianej (ok. 6 mg/100 g). W pozostałych mąkach zawartość tego składnika mineralnego była znacznie wyższa – aż 4-5 krotnie. Najwyższą zawartością magnezu charakteryzowała się mąka kukurydziana – blisko 100 mg/100 g. Pozostałe mąki zawierały o wiele mniej tego pierwiastka – w przypadku mąki żytniej było to ok. 35 mg/100 g, a w mąkach pszennych 10-20 mg/100 g. Wszystkie analizowane mąki nie różniły się statystycznie istotnie zawartością żelaza, którego ilość była najmniejsza spośród wszystkich oznaczanych pierwiastków. Zawartości składników mineralnych w badanych mąkach pszennych, żytniej i kukurydzianej były na poziomie podobnym do tych przedstawianych przez Departament Rolnictwa USDA (<https://fdc.nal.usda.gov>) oraz były zgodne z zawartościami podawanymi w tabelach wartości odżywczych (Kunachowicz i in. 2020). Podobny poziom poszczególnych składników mineralnych w mąkach handlowych zaprezentowali również Araujo i in. (2008), Litwinek i in. (2017), Nikolić i in. (2019) oraz Saeid i in. (2015). Wyniki badań przeprowadzonych przez wyżej wymienionych autorów wskazują na to, jak duże jest zróżnicowanie zawartości składników mineralnych w mąkach handlowych. Na zawartość poszczególnych składników mineralnych w mąkach ma wpływ wiele czynników, a najważniejszymi z nich są gatunek i odmiana zboża wykorzystanego do jej produkcji, metoda produkcji (np. rodzaj przemiału) oraz warunki uprawy zbóż (Jones i in. 2015, Wang i in. 2020).

W badanych makaronach zawartość sodu była najwyższa w makaronie wytworzonym z mąki makaronowej i w makaronie pełnoziarnistym z dodatkiem prosa i lnu (130 mg/100 g). W pozostałych makaronach zawartość sodu była o wiele mniejsza – wynosiła ok. 10-25% przytoczonej wyżej wartości. W przypadku potasu natomiast najwyższą jego zawartością charakteryzowały się: makaron jajeczny oraz makaron 100% durum (150 mg/100 g). W pozostałych makaronach zawartość tego pierwiastka była 5-krotnie mniejsza. Zawartość wapnia w badanych makaronach była umiarkowanie zróżnicowana (średnia zawartość we wszystkich makaronach wyniosła  $33 \pm 4$  mg/100 g produktu). Podobnie jak zawartość potasu, zawartość magnezu była najwyższa w makaronach jajecznym i pełnoziarnistym 100% durum (ok. 160 mg/100 g produktu), natomiast w pozostałych makaronach zawartość tego pierwiastka wynosiła 5-7 mg/100 g (tab. 2). Żelazo, podobnie jak to było w mąkach, nie występowało w makaronach w dużej ilości (3-8 mg/100 g), z wyjątkiem makaronu pełnoziarnistego 100% durum. Analizę makaronów handlowych pod kątem zawartości składników mineralnych przeprowadzili również Chekri i in. (2012), Grembecka i in. (2011) oraz Jachimowicz i in. (2021). Uzyskali oni wyniki zbliżone do prezentowanych w tej pracy. Na zawartość składników mineralnych w makaronach ma wpływ wiele czynników – nie tylko typ mąki użytej do sporządzenia makaronu, ale również dodatkowe składniki: proszek jajeczny, len, warzywa, rośliny strączkowe (Fuad i Prabhasankar 2010).

**Tabela 2.** Zawartość sodu, potasu, wapnia, magnezu i żelaza w mąkach i w makaronach

Zawartość składników mineralnych (mg/100 g)					
Rodzaj mąki	Sód	Potas	Wapń	Magnez	Żelazo
pszenna tortowa	7,8 ± 0,2	30,8 ± 0,5	26,3 ± 0,7	9,8 ± 1,0	2,8 ± 0,3
pszenna	13,1 ± 0,5	37,1 ± 0,5	29,7 ± 0,6	22,3 ± 2,1	4,5 ± 0,9
pszenna krupczatka	13,6 ± 0,1	30,9 ± 0,3	26,4 ± 0,5	11,7 ± 0,8	4,3 ± 0,4
żytnia	11,2 ± 0,1	67,5 ± 0,5	23,6 ± 0,3	34,1 ± 2,3	5,2 ± 1,1
kukurydziana	11,8 ± 0,2	68,8 ± 0,1	5,5 ± 0,7	96,6 ± 4,1	5,2 ± 0,4
NIR <sub>(0,05)</sub>	0,7	1,1	1,5	8,2	NS
Rodzaj makaronu	Sód	Potas	Wapń	Magnez	Żelazo
z mąki makaronowej	128,9 ± 2,9	36,6 ± 0,2	37,9 ± 1,0	7,5 ± 1,1	5,4 ± 1,0
100% durum	15,2 ± 0,1	29,7 ± 0,7	26,6 ± 0,8	5,5 ± 0,9	6,4 ± 1,1
jajeczny	30,0 ± 0,2	150,4 ± 2,9	34,6 ± 2,8	163,6 ± 5,7	8,3 ± 1,1
pełnoziarnisty 100% durum	22,2 ± 1,0	153,7 ± 3,1	29,6 ± 0,6	160,9 ± 6,7	11,0 ± 0,3
pełnoziarnisty proso-len	134,2 ± 0,8	36,0 ± 0,4	37,1 ± 0,5	5,0 ± 1,0	3,4 ± 0,9
NIR <sub>(0,05)</sub>	3,7	5,3	3,8	14,0	2,4

Objaśnienia: NIR – najmniejsza istotna różnica, NS – brak statystycznie istotnych różnic

#### 4. Wnioski

1. Zawartość wody w badanych mąkach była na poziomie 10-13%, a w makaronach – na poziomie 8-12%.
2. Zawartość popiołu była najwyższa w mące żytniej, a najniższa w mące kukurydzianej, w pozostałych mąkach pszennych była na zbliżonym poziomie.
3. Zawartość popiołu w makaronach wytworzonych na bazie mąki pełnoziarnistej była większa niż w pozostałych makaronach.
4. Mąka kukurydziana charakteryzowała się o wyższą zawartością magnezu i niższą zawartością wapnia niż pozostałe mąki. Zawartość potasu w mące żytniej i kukurydzianej była dwa razy wyższa niż w pozostałych mąkach. Rodzaj mąki nie miał wpływu na zawartość w niej żelaza.
5. Makarony jajeczny i pełnoziarnisty 100% charakteryzowały się podobnymi proporcjami ilości sodu, potasu, wapnia, magnezu i żelaza.

#### Literatura

1. Araujo R. G. O., Macedo S. M., Korn M., Pimentel M. F., Bruns R. E., Ferreira S. L. C. (2008). Mineral composition of wheat flour consumed in Brazilian cities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19(5), 935-932.
2. Bresciani A. Pagani M. A., Marti A. (2022). Pasta-making process: a narrative review on the relation between process variables and pasta quality. *Foods*, 11, 256.
3. Cappelli A., Cini E. (2021). Challenges and opportunities in wheat flour, pasta, bread, and bakery product production chains: a systematic review of innovations and

- improvement strategies to increase sustainability, productivity, and product quality. *Sustainability*, 13, 2608.
4. Carpentieri S., Larrea-Wachtendorff D., Donsì F., Ferrari G. (2022) Functionalization of pasta through the incorporation of bioactive compounds from agri-food by-products: fundamentals, opportunities, and drawbacks. *Trends in Food Science & Technology*, 122, 49-65.
  5. Chekri R., Noël L., Millour S., Vastel Ch., Kadar A., Sirot V., Leblanc J-Ch., Thierry Guérin T. (2012). Calcium, magnesium, sodium and potassium levels in foodstuffs from the second French total diet study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(2), 97-107.
  6. Cichoń Z., Ptak M. (2005). Analiza jakości wybranych rodzajów mąki pszennej. *Zeszyty Naukowe Akademii Ekonomicznej w Krakowie*, nr 678, 89-102.
  7. Czerwińska, B. (2010). Mąki niechlebowe i ich zastosowanie. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 54, 05, 4-5.
  8. Fuad T., Prabhasankar P. (2010) Role of ingredients in pasta product quality: A review on recent developments. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8), 787-798.
  9. Górecka D., Hęś M., Stachecka A., Dziedzic K. (2017). Produkty zbożowe – źródło składników prozdrowotnych. Ocena spożycia. *Przemysł Spożywczy*. 71(1), 30-33.
  10. Grembecka A., Mielczarek A., Szefer P. (2011). Jakość makaronów w świetle ich składu pierwiastkowego. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 62(3), 295-299.
  11. Hrušková M., Machová D. (2002). Changes of wheat flour properties during short term storage. *Czech Journal of Food Sciences*, 20, 125-130.
  12. <https://fdc.nal.usda.gov>
  13. <https://www.topagrar.pl/articles/aktualnosci-branzowe-uprawa/ile-polscy-rolnicy-zebrali-w-2022-roku-zboz-rzepaku-kukurydzy-burakow-cukrowych-i-warzyw-gruntowych>
  14. Jachimowicz K., Winiarska-Mieczan A., Baranowska-Wójcik E., Bąkowski M. (2021). Pasta as a source of minerals in the diets of poles; Effect of culinary processing of pasta on the content of minerals. *Foods*, 10(9), 20131.
  15. Jurga R. (2010). Omówienie najczęstszych wad makaronu. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 54(9), 20-22.
  16. Jones J., Adams J., Harriman C., Miller Ch., Van der Kamp J. (2015). Nutritional impacts of different whole grain milling techniques: A review of milling practices and existing data. *Cereal Foods World*, 60(3), 130-139.
  17. Kunachowicz H., Przygoda B., Nadolna I., Iwanow K. (2020). Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa.
  18. Litwinek D. Buksa K., Gambuś H., Kowalczyk M., Boreczek J. (2017). Ocena jakości mąk całościarnowych – pszennej orkiszowej, pszennej zwyczajnej i żytniej oraz uzyskanych z nich zakwasów spontanicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 24(4), 76-89.

19. Nikolić N., Mitrović N., Karabegović I., Savić S., Petrović S., Lazić M., Stojanović G. (2019). A comparison between wheat and different kinds of corn flour based on minerals, free phenolic acid composition and antioxidant activity. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 11(4), 341-349.
20. Noorfarahzilah M., Lee J. S., Sharifudin M. S., Mohd Fadzelly A. B., Hasmadi M. (2014). Applications of composite flour in development of food products. *International Food Research Journal*, 21(6), 2061-2074.
21. Obuchowski W., Majcher M., Makowska A., Kołodziejczyk P., Chalcarz, A. Paschke, H. (2013). Makaron jako źródło i nośnik substancji o charakterze bioaktywnym. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 323–330.
22. Poutanen K. (2012). Past and future of cereal grains as food for health. *Trends in Food Science & Technology*, 25(2), 58-62.
23. PN ISO 2171:1994. Ziarno zbóż, nasiona roślin strączkowych i ich przetwory. Oznaczanie zawartości popiołu metodą spalania.
24. PN-A-74131:1999. Makaron.
25. PN-A-74032:2002. Przetwory zbożowe. Mąka żytnia.
26. PN-A-74022:2003. Przetwory zbożowe mąka pszenna.
27. PN-EN 14084:2004. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie pierwiastków śladowych. Oznaczanie zawartości ołowiu, kadmu, cynku, miedzi i żelaza metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS) po mineralizacji mikrofalowej.
28. PN-EN 15505:2009. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie pierwiastków śladowych. Oznaczanie zawartości sodu i magnezu metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) po mineralizacji mikrofalowej.
29. PN-EN ISO 712:2012. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Metoda odwoławcza.
30. Romankiewicz D., Cacak-Pietrzak G., Gonda M. (2014). Ocena jakości makaronów handlowych typu świderki. *Acta Agrophysica*, 21(13), 327-335.
31. Saeid A., Hoque S, Kumar U., Das M., Muhammad N., Rahman M. M., Ahmed M. (2015). Comparative studies on nutritional quality of commercial wheat flour in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 50(3), 181-188.
32. Singh J., Singh N., Sharma T. R., Saxena S. K. (2003). Physicochemical, rheological and cookie making properties of corn and potato flours. *Food Chemistry*, 83 (3), 387-393.
33. Sobota A., Dobosz M. (2010). Jakość dostępnych na rynku makaronów pełnoziarnistych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 6(73), 83-99.
34. Sułek A., Jaśkiewicz B. (2016) Tendencje w produkcji i wykorzystaniu zbóż w Polsce. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 47(1), 155-166.
35. Szwedziak K., Polańczyk E., Dąbrowska-Mołęda M., Nowaczyk M. (2018). Analiza jakości wybranych typów mąki pszennej. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2, 5-8.

36. Wang J., Chatzidimitriou E., Wood L., Hasanalieva G., Markellou E., Iversen P. O., Seal Ch., Baranski M., Vigar V., Ernst L., Willson A., Thapa M., Barkla B. J., Leifert C., Rempe-los L. (2020). Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs *T. spelta*), farming system (organic vs conventional) and flour type (wholegrain vs white) on composition of wheat flour – Results of a retail survey in the UK and Germany – 2. Antioxidant activity, and phenolic and mineral content. *Food Chemistry: X*, 6, 100091.

## **The content of mineral compounds in cereal food products on the Polish market**

### **Abstract**

Cereal products are among the most frequently consumed plant-based foods in the world, so it is important to constantly monitor and analyse their nutritional value. Therefore, the aim of this study was to analyse the mineral composition of flour and pasta available on the Polish market. The research materials included flours (corn, wheat, and rye) and pasta (wheat and whole grain) from leading food producers. The following parameters were analysed in the research materials: water content, ash content, as well as the levels of sodium, potassium, magnesium, iron, and calcium measured using atomic absorption spectrometry (AAS). The results indicated that the water content in flour ranged from 10% to 13%, while in pasta, it ranged from 8% to 12%. Rye flour had a higher mineral content (calculated as ash content) compared to other flours. Furthermore, whole grain pasta had a higher ash content when compared to other pasta varieties. The mineral content (sodium, potassium, calcium, iron, and magnesium) in the products varied and depended on the raw materials used for pasta production.

## Grzyby jako źródło cennych związków bioaktywnych w diecie człowieka i dla przemysłu kosmetycznego

Joanna B. Kukieła<sup>1,2\*</sup>, Małgorzata Tabaszewska<sup>1</sup>, Emilia Bernaś<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności, Katedra Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywnienia*

<sup>2</sup>*Key C Co Limited*

\**Autor korespondencyjny: coo@key-c.eu*

### Streszczenie

Grzyby stanowią dobre źródło wielu składników funkcjonalnych, w tym m.in. białek o dużej przyswajalności, polisacharydów, a także składników mineralnych i witamin. W ostatnim czasie obserwuje się systematyczny wzrost zainteresowania tym surowcem, szczególnie w naukach farmaceutycznych, kosmologii i przemyśle spożywczym. Tendencja wzrostowa, z pewnymi wahaniami, utrzymuje się przez ostatnie kilka lat. Dobroczynne działanie substancji aktywnych zawartych w grzybach można wykorzystać poprzez spożywanie owocników lub stosowanie suplementów diety w postaci preparatów zawierających ekstrakty grzybowe, a także produktów do użytku zewnętrznego, aplikowanych bezpośrednio na skórę.

W niniejszej pracy omówiono zastosowanie wybranych gatunków grzybów (m.in. pieczarki dwuzarodnikowej, maczużnika chińskiego, bocznika sajoj-caju) w farmacji i kosmologii, ze szczególnym uwzględnieniem korzystnego i zarazem wielokierunkowego oddziaływania na wygląd i funkcje skóry. Na podstawie dokonanego przeglądu literatury można stwierdzić, że grzyby stanowią niezwykle cenny surowiec mogący wspomóc organizm człowieka zarówno od wewnątrz, jak i od zewnątrz.

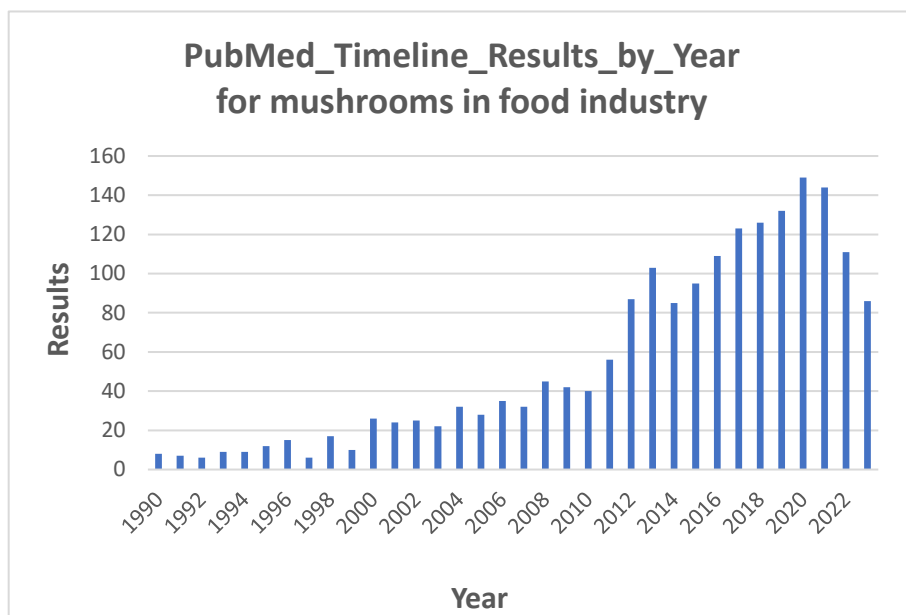
**Słowa kluczowe:** grzyby, skład chemiczny, polisacharydy, białka, kosmologia

### 1. Wprowadzenie

Grzyby jadalne, w tym zarówno owocniki, jak i mycelium, są źródłem wielu cennych składników, które znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach życia, m.in. w medycynie tradycyjnej, przemyśle spożywczym, a także w branży kosmetycznej. Grzyby odgrywają istotną rolę w przemyśle spożywczym. W produkcji serów, piwa, wina i chleba zastosowanie znalazły grzyby mikroskopowe. Cenne właściwości lecznicze i odżywcze oraz charakterystyczny smak i konsystencja grzybów wielkoowocnikowych powodują, że od wielu lat obserwuje się wzrost ich spożycia, a przez to wykorzystania w przemyśle spożywczym (rys. 1; Sun i in. 2022).

Spośród składników bioaktywnych na szczególną uwagę zasługują tzw. jadalne polisacharydy grzybowe (ang. edible fungal polysaccharides, EFPs), które mają udowodnione działanie przeciwutleniające, immunomodulujące, przeciwnowotworowe, hipoglikemiczne i hipolipidemiczne. W ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci zaobserwowano

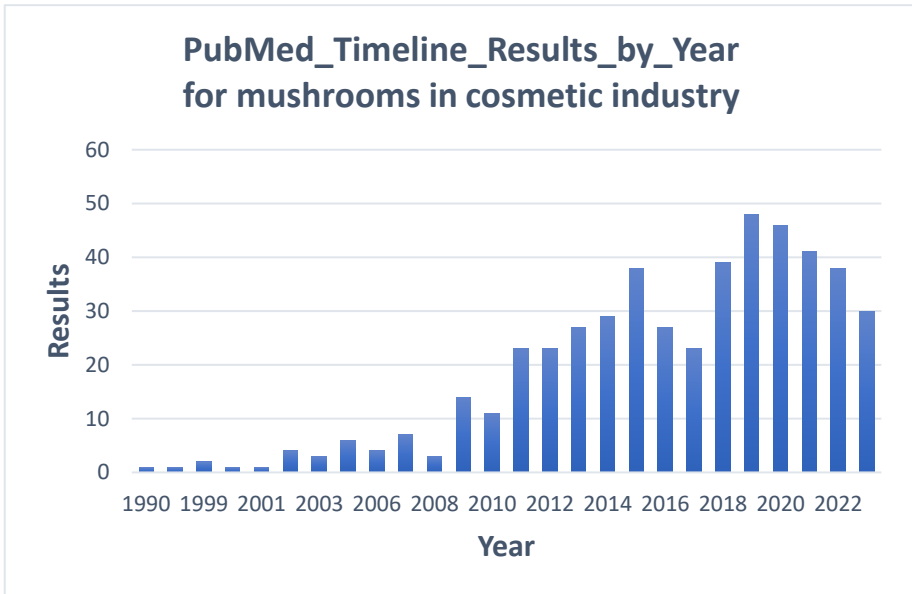
wykorzystanie EFPs w różnych dziedzinach nauki, m.in. w biologii molekularnej, immunologii, biotechnologii i chemii farmaceutycznej. Należy jednak podkreślić, że aktywność EFPs jest bardzo zróżnicowana i istotnie zależy od gatunku grzyba i metody ekstrakcji, w związku z czym bardzo trudne jest pełne określenie ich właściwości biologicznych. Współcześnie polisacharydy grzybowe, ze względu na ich wielofunkcyjność oraz liczny, udowodniony korzystny wpływ na kondycję skóry, przyciągają uwagę również przedstawicieli branży kosmetycznej.



**Rysunek 1.** Liczba rekordów PubMed w poszczególnych latach z zakresu „grzybów w przemyśle spożywczym” (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=mushrooms+in+the+food+industry>)

Wiele składników pozyskanych z grzybów o silnym potencjale leczniczym, może zostać wykorzystanych do produkcji kosmetyków, zarówno stosowanych miejscowo na skórę, np. w formie balsamów lub kremów (tzw. kosmeceutyki), jak i aplikowanych doustnie (tzw. nutrikosmetyki). Na światowym rynku wzrasta zainteresowanie tego rodzaju produktami (rys. 2). Istnieją kosmetyki, które zawierają składniki bioaktywne ekstrahowane z różnych gatunków grzybów, m.in. z *Agaricus subrufescens* (inna nazwa *A. blazei* czy *A. brasiliensis*), *Choiromyces maeandriiformis*, *Cordyceps sinensis*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hypsizyonotus obliquus*, *Trametes versicolor*, *Tremella fuciformis*, *Tuber spp.*, *Schizophyllum commune*. Składniki pochodzące z grzybów wchodzi w skład kosmetyków pielęgnacyjnych o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwstarzeniowym, rewitalizującym skórę, wybielającym, a także stanowią komponenty wielu formuł produktów do włosów. Do zastosowań kosmetycznych zostały włączone grzyby powszechnie znane (m.in. *Agaricus subrufescens*, *Schizophyllum commune*), wytwarzające związki chemiczne mające właściwości lecznicze. Istnieje jednak wiele innych gatunków, dotąd nieprzebadanych,

nieopisanych czy też takich, które nie nadają się do hodowli, a które stanowią ogromny potencjał do wykorzystania w przemyśle kosmetycznym (Hyde i in. 2010).



**Rysunek 2.** Liczba rekordów PubMed w poszczególnych latach z zakresu „grzybów w przemyśle kosmetycznym” (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=mushrooms+in+the+cosmetics+industry>)

Substancje izolowane z grzybów znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, jednak potencjał wielu z nich jest dotychczas niewykorzystany (Hyde i in. 2010). W związku z tym celem niniejszej pracy jest charakterystyka właściwości funkcjonalnych wybranych gatunków grzybów pod kątem ich wielokierunkowego wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym.

## 2. Właściwości funkcjonalne wybranych gatunków grzybów

Grzyby jadalne są cennym źródłem węglowodanów ogółem (ich zawartość wynosi 63-84 g/100 g suchej masy) i białka (jego zawartość wynosi 9-24 g/100 g suchej masy), natomiast zawierają niewielką ilość tłuszczu (1-6 g/100 g suchej masy). Spośród analizowanych przez Jacinto-Azevedo i in. (2021) 24 gatunków dziko rosnących grzybów jadalnych, najwyższą zawartość fenoli i aktywność przeciwutleniającą wykazał gatunek *Ramaria flava*, natomiast owocniki *Boletus loyo*, *Cortinarius lebre* i *Grifola gargal* charakteryzowały się wysoką wartością odżywczą oraz silnymi właściwościami biologicznymi, stanowiąc surowce do potencjalnego zastosowania w produkcji suplementów diety.

Grzyby jadalne mogą być także potencjalnym źródłem kwasów tłuszczowych. Związki te występują z reguły w niewielkiej ilości (0,6-4,7 g/100 g suchej masy), jednak przeważają wśród nich nienasycone kwasy tłuszczowe, które stanowią od 52 do 87% wszystkich kwasów tłuszczowych. Głównym jednonienasyconym kwasem tłuszczowym jest kwas



oleinowy, a wśród kwasów wielonienasyconych dominuje kwas linolowy. Należy zaznaczyć, że stosunek kwasu linolowego do oleinowego u poszczególnych gatunków grzybów znacznie się różni. Znaczącą ilość kwasu linolowego stwierdzono w owocnikach *Hydnum repandum* i *Macrolepiota procera* pochodzących z różnych regionów Indii (Kavishree i in. 2008). Podobnie, według innych autorów (Günç Ergönül i in. 2013) w owocnikach *Boletus reticulatus*, *Flammulina velutipes* var. *Velutipes*, *Lactarius salmonicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus squamosus* i *Russula anthracina*, zebranych w różnych regionach Anatolii, dominującym kwasem tłuszczowym był kwas *cis*-linolowy (18:2), którego ilość stanowiła od 22 do 65% wszystkich kwasów tłuszczowych. Oprócz tego stwierdzono znaczącą ilość kwasu *cis*-oleinowego, palmitynowego i stearynowego. Bengu (2020) badając skład kwasów tłuszczowych różnych gatunków grzybów (*Morchella elata*, *Macrolepiota procera*, *Lactarius delicious*, *Helvella lacunosa*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Bovista plumbea*, *Agaricus bisporus*) zebranych w regionach Yozgat i Tokat w Turcji zauważyli, że zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych zależy od gatunku grzyba, przy czym zidentyfikowano kwasy tłuszczowe o 14-24 atomach węgla. Kwas oleinowy i kwas linolowy występowały we wszystkich gatunkach grzybów (10-51%), kwas linolowy był głównym związkiem występującym w owocnikach *Bovista plumbea* i *Agaricus bisporus*. W gatunkach *Bovista plumbea*, *Agaricus bisporus* i *Macrolepiota procera* zawartość kwasu linowego była najwyższa. Innymi istotnymi kwasami tłuszczowymi obecnymi we wszystkich badanych grzybach były odpowiednio: kwas palmitynowy, stearynowy i oleinowy. Szczególnie wysoki poziom kwasu dokożadienowego zaobserwowano w *Morchella elata*.

Bardzo cennymi składnikami grzybów są  $\beta$ -glukany. Przykładem może być pochodzący z *Schizophyllum commune* Schizophyllan, zawierający wiązania  $\beta$ -1,6- i  $\beta$ -1,3-glikozydowe. Związek ten łagodzi stany zapalne, podrażnienia, a także zmniejsza uszkodzenia skóry wywołane ekspozycją na promieniowanie UV oraz toksyczne czynniki środowiskowe. Gatunkiem grzyba stosowanym do produkcji kosmetyków, zawierającym wysoki poziom  $\beta$ -glukanów, może być *Agaricus subrufescens*. Badania naukowe wykazały, że ma on właściwości antymutagenne, antyklastogenne, antygenotoksyczne, przeciwnowotworowe oraz redukujące zarówno oksydacyjne uszkodzenia DNA, jak i ilość aberracji chromosomowych. Kolejnym, cennym gatunkiem grzyba jest *Ganoderma lucidum*, który zawiera kwasy ganoderynowe o właściwościach przeciwnowotworowych oraz ergotioneinę o działaniu przeciwutleniającym i wspomagającym organizm człowieka w zwalczaniu wolnych rodników. Wymienionym wyżej substancjom przypisuje się także korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy, a także działanie przeciwstarzeniowe. Ergotioneina występuje także w pieczarce dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*), której owocniki zawierają 12 razy więcej tego składnika niż kielki pszenicy uważane za jego dobre źródło (Hyde i in. 2010).

W przypadku wprowadzania nowych produktów kosmetycznych do obrotu istnieje szereg wymagań. Najważniejszym wymogiem jest ich bezpieczeństwo, a co za tym idzie brak niepożądanych efektów ubocznych, związanych zarówno z toksycznością lokalną, jak

i systemową oraz pozytywny wpływ na skórę. W związku z tym obserwuje się stale wzrastającą tendencję do stosowania w kosmetykach produktów pochodzenia naturalnego.

### **2.1. Pieczarka dwuzarodnikowa (*Agaricus bisporus*)**

Pieczarka dwuzarodnikowa, należąca do rodziny *Agaricaceae*, jest najpowszechniej spożywanym grzybem uprawnym na świecie. Jest ona źródłem węglowodanów (błonnik pokarmowy), białka, składników mineralnych, witamin z grupy B oraz innych substancji o właściwościach przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych.

Związki bioaktywne wyekstrahowane z pieczarki dwuzarodnikowej mogą być stosowane w leczeniu wielu chorób występujących u ludzi, w tym nowotworów, infekcji bakteryjnych i grzybiczych, cukrzyca, chorób serca i problemów skórnych. *A. bisporus* jest także cennym grzybem pod względem kulinarnym. W ostatnich latach, z owocników pieczarki pozyskuje się tyrozynazę i ergotioneinę. Należy podkreślić, że w przypadku tego gatunku grzyba badania naukowe skupiają się przede wszystkim na jego znaczeniu żywieniowym i farmaceutycznym, natomiast wciąż brakuje danych dotyczących jego potencjału biotechnologicznego, a co za tym idzie zastosowania w branży kosmetycznej.

Przemysł kosmetyczny nieustannie pracuje nad wyizolowaniem składników bioaktywnych z grzybów i potwierdzeniem ich dobroczynnego działania na skórę, a następnie wykorzystania w produktach kosmetycznych, takich jak balsamy i kremy. Proces starzenia się znacząco wpływa na skórę, między innymi poprzez zmiany hormonalne zachodzące wraz z wiekiem oraz ekspozycję na promieniowanie ultrafioletowe. Prowadzi do wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS), powodujących stres oksydacyjny (Usman i in. 2021).

Pieczarka dwuzarodnikowa jest źródłem polisacharydów, związków o właściwościach przeciwutleniających, a także przeciwdrobnoustrojowych, co może być wykorzystane w przemyśle kosmetycznym (Ramos i in. 2019). Owocniki tego gatunku grzyba są źródłem  $\beta$  glukanów, ergosterolu, witaminy D2 oraz flawonoidów. Wykazano, że grzyby z gatunku *Agaricus bisporus* wystawione na działanie promieni UVB syntezują znaczną ilość witaminy D2 i utrzymują poziom 25(OH)D w surowicy krwi w podobnym stopniu, jak suplementy zawierające tą witaminę. Co więcej, dowody naukowe wskazują, że *A. bisporus* może obniżyć ryzyko wystąpienia raka jajnika i raka prostaty oraz potencjalnie łagodzić dolegliwości zespołu metabolicznego, a także wspomagać funkcjonowanie układu odpornościowego i wykazywać pozytywny wpływ na przewód pokarmowy (Blumfield i in. 2020).

We współczesnym świecie konsumenci są coraz bardziej zainteresowani stosowaniem naturalnych związków do pielęgnacji skóry. Ponadto, zapotrzebowanie na takie związki wzrasta ze względu na ich znaczącą rolę w usuwaniu wolnych rodników i zmniejszaniu produkcji enzymów oksydacyjnych. Enzym tyrozynaza, wyekstrahowany z *A. bisporus*, jest skuteczny w zwalczaniu stanów zapalnych i chorób zapalnych skóry. Z kolei etanolowy ekstrakt z pieczarek wykazuje silne właściwości przeciwutleniające, dzięki czemu może pełnić ważną funkcję w regeneracji starzejącej się skóry. Ekstrakty z *A. bisporus* wykazują aktywność przeciwbakteryjną wobec szkodliwych mikroorganizmów, w tym wobec *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę oraz wrażliwych na metycylinę. Bakterie te

są znane z kolonizowania skóry podczas urazów i stanów zapalnych. Krem do zastosowań kosmetycznych przygotowany z ekstraktów z pieczarki wykazał działanie przeciwzapalne i przeciwutleniające, a także rozjaśniające, poprzez hamowanie aktywności tyrozynazy i zapobieganie syntezie melaniny. Preparaty kosmetyczne zawierające wyciągi z grzybów hamują wzrost szczepów bakterii, które powodują uszkodzenia skóry. Niektóre związki bioaktywne zawarte w kremie, wyekstrahowane z grzybów wykazywały pożądany wpływ na poprawę urody oraz na zwalczanie stanów zapalnych, na starzenie się skóry i hiperpigmentację. Krem bazowy przygotowany z dodatkiem ekstraktu z *A. bisporus* wykazywał znaczący potencjał antyoksydacyjny i działanie przeciwbakteryjne wobec niektórych szczepów bakterii. Ekstrakt z tego gatunku grzyba zawierający bioaktywny związek (2-amino-3H-fenoksazyń-3-on) zastosowany w określonych stężeniach, np. 0,5, 1,0 i 2,0  $\mu\text{M}$ , hamował produkcję melaniny odpowiednio o 80, 54 i 39%.

Jak wykazały badania naukowe, szampony zawierające ekstrakt z *A. bisporus* mogą pozytywnie wpływać na problemy skóry głowy, takie jak łupież, przetłuszczanie się włosów czy wypadanie włosów. Tego rodzaju szampon może być również stosowany do oczyszczania skóry głowy i jednoczesnego pobudzania wzrostu włosów. *A. bisporus* zawiera także związki fenolowe, witaminę D oraz miedź, żelazo i selen, które odgrywają szczególną rolę w tworzeniu zdrowych i mocnych włosów, a także zapobiegają wypadaniu włosów i ograniczają łupież (Usman i in. 2021).

## 2.2. Maczuźnik chiński (*Cordyceps sinensis*)

Maczuźnik chiński jest grzybem o wielu cennych właściwościach. Wykazuje on działanie przeciwwirusowe i antybakteryjne, stymuluje odporność organizmu oraz zawiera niezwykle cenne nukleozydy: kordycepinę i ergosterol. Kordycepina (3'dATP) uważana jest za silny antyoksydant, wykazujący również działanie przeciw cukrzycowe. Kwas kordycepinowy poprawia odporność i działa stymulująco na metabolizm. Maczuźnik chiński jest również bogaty w bioaktywne substancje o szerokim spektrum działania. Należą do nich między innymi  $\beta$ -glukany, o udowodnionym naukowo działaniu prozdrowotnym. Ponadto, polisacharydy poprawiają przemianę materii, przyspieszają detoksykację oraz działają antyoksydacyjnie i wspierają na odporność (Karpińska 2011).

## 2.3. Bocznik sajour-caju (*Pleurotus sajor-caju*)

Jednym z cenniejszych gatunków grzybów jest bocznik sajour-caju, który może być uprawiany na odpadach przemysłu drzewnego. Owocniki tego gatunku są zasobne w izoleucynę (jej zawartość w 100 g stanowi 150% RWS – referencyjnej wartości spożycia) i metioninę (jej zawartość w 100 g stanowi 56% RWS). Wśród kwasów tłuszczowych występują kwasy wielonienasycone (linolenowy 29,5%, linolenowy 11,6% i arachidonowy 0,2%), jednonienasycone (oleinowy 41,7%, palmitooleinowy 0,2% i erukowy 7,09%) oraz nienasycone (kaprylowy 0,9%, mirystynowy 0,2%, palmitynowy 5,3%, margarowy 0,2%, stearynowy 2,4%, arachidowy 0,1%, behenowy 0,3% i lignocerynowy 0,2%) (Kayode 2015).

Wyniki badań pokazują, że owocniki *P. sajor-caju* mogą dostarczać związków bioaktywnych o działaniu przeciwutleniającym i przeciwdrobnoustrojowym. W próbkach *P. sajor-caju* zidentyfikowano kwas linolowy, kwas pentadekanowy i 2-etyloakrydynę o potencjale przeciwdrobnoustrojowym. Ponadto, wykryto i oznaczono ilościowo 16 związków fenolowych, przy czym głównymi fenolami były kwasy chlorogenowy i wanilinowy. Poszczególne frakcje otrzymane z omawianego gatunku grzyba wykazywały silne działanie hamujące wzrost mikroorganizmów oraz wysoki potencjał przeciwutleniający, co oznacza, że mogłyby one znaleźć zastosowanie w produktach kosmetycznych, nutraceutycznych oraz w żywności (Krümmel i in. 2022).

### 3. Podsumowanie

Na podstawie dokonanego przeglądu literatury można wnioskować, że jadalne grzyby, zarówno uprawne, jak i dziko rosnące, zawierają znaczne ilości cennych składników biologicznie aktywnych, które mogą znaleźć potencjalnie zastosowanie w produkcji żywności, kosmetyków oraz suplementów diety. Należy jednak podkreślić, że istnieje duża zmienność w zawartości poszczególnych związków zarówno w różnych gatunkach grzybów, jak i w grzybach tego samego gatunku, lecz wzrastającego w odmiennych warunkach (np. temperaturowych). Oznaczając zawartość określonych związków funkcjonalnych w grzybach należy wziąć pod uwagę rodzaj rozpuszczalnika stosowanego do ekstrakcji oraz warunki samego procesu.

### Literatura

1. Bengu A. S. (2020). The fatty acid composition in some economic and wild edible mushrooms in Turkey. *Progress in Nutrition*, 22(1), 185-192.
2. Blumfield M., Abbott K., Duve E., Cassettari T., Marshall S., Fayet-Moore F. (2020). Examining the health effects and bioactive components in *Agaricus bisporus* mushrooms: a scoping review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 84, 108453.
3. Günç Ergönül P., Akata I., Kalyoncu F., Ergönül B. (2013). Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. *The Scientific World Journal*, 6, 163964.
4. Hyde K. D., Bahkali A. H., Moslem M. A. (2010). Fungi – an unusual source for cosmetics. *Fungal Diversity*, 43, 1-9.
5. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=mushrooms+in+the+food+industry> (dostęp: 20.09.2023).
6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=mushrooms+in+the+cosmetics+industry> (dostęp: 20.09.2023).
7. Jacinto-Azevedo B., Valderrama N., Henríquez K., Aranda M., Aqueveque P. (2021). Nutritional value and biological properties of Chilean wild and commercial edible mushrooms. *Food Chemistry*, 356(21), 129651.
8. Karpińska E. (2011). Biostymulujące właściwości entomopatogenicznych grzybów z rodzaju *Cordyceps*. *Borgis-Postępy Fitoterapii*, 4, 254-264.

9. Kavishree S., Hemavathy J., Lokesh B. R., Shashirekha M. N., Rajarathnam S. (2008). Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chemistry*, 106, 597-602.
10. Kayode R. M. O., Olakulehin T. F., Adedeji B. S., Ahmed O., Aliyu T. H., Badmos A. H. A. (2015). Evaluation of amino acid and fatty acid profiles of commercially cultivated oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) grown on gmelina wood waste. *Nigerian Food Journal*, 33, 18-21.
11. Krümmel A., Rodrigues L., Vitali L., Salvador Ferreira S. (2022). Bioactive compounds from *Pleurotus sajor-caju* mushroom recovered by sustainable high-pressure methods. *LWT*, 160(15), 113316.
12. Ramos M., Burgos N., Barnard A., Evans G., Preece J., Graz M., Ruthes A.C., Jiménez-Quero A., Martínez-Abad A., Vilaplana F., Ngoc L.P., Brouwer A., van der Burg B., Del Carmen Garrigós M., Jiménez A. (2019). *Agaricus bisporus* and its by-products as a source of valuable extracts and bioactive compounds. *Food Chemistry*, 15, 292, 176-187.
13. Sun Y., He H., Wang Q., Yang X., Jiang S., Wang D. (2022). A review of development and utilization for edible fungal polysaccharides: extraction, chemical characteristics, and bioactivities. *Polymers (Basel)*, 14 (20), 4454.
14. Usman M., Murtaza G., Ditta A. (2021). Nutritional, medicinal, and cosmetic value of bioactive compounds in button mushroom (*Agaricus bisporus*): A review. *Applied Science*, 11, 5943.

## **Mushrooms as a universal source of easily digestible active compounds for the cosmetics and food industry**

### **Abstract**

Mushrooms are a good source of many functional ingredients, including highly digestible proteins, polysaccharides, as well as minerals and vitamins. Recently, there has been a systematic increase in interest in mushrooms, especially in pharmaceutical sciences, cosmetology and the food industry. The upward trend, with some fluctuations, has been continuing for several years. The beneficial effects of active substances contained in mushrooms can be obtained by direct consumption of fruiting bodies or the use of dietary supplements in the form of preparations containing mushroom extracts, as well as products for external use, applied directly to the skin.

This work discusses the use of selected species of mushrooms (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Cordyceps sinensis*) in pharmacy and cosmetology, with particular emphasis on the beneficial and multidirectional impact on the appearance and functions of the skin. Based on the literature review, it can be concluded that mushrooms are an extremely valuable raw materials that can support human health.

## Determination of antidiabetic activity of steviol glycosides by evaluation of $\alpha$ -glucosidase inhibition *in vitro*

Jakub Michał Kurek<sup>1</sup>, Anna Gościński<sup>2</sup>, Judyta Cielecka-Piontek<sup>2</sup>, Zbigniew Krejpcio<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Poznań University of Life Sciences, Department of Human Nutrition and Dietetics; Poznań, Poland

<sup>2</sup>Poznań University of Medical Sciences, Department of Pharmacognosy and Biomaterials; Poznań, Poland

\*Autor korespondencyjny: [zbigniew.krejpcio@up.poznan.pl](mailto:zbigniew.krejpcio@up.poznan.pl)

### Abstract

Stevia and its glycosides are becoming increasingly popular due to their health-promoting properties, such as anti-inflammatory, oral health-promoting, antihypertensive and antidiabetic potential. As the mechanisms underlying the antidiabetic effects of steviol glycosides have not been fully understood, they require further investigation. This study aimed to evaluate the antidiabetic activity of steviol glycosides (stevioside and rebaudioside A) in terms of  $\alpha$ -glucosidase inhibition using the spectrophotometric method. It was found that stevioside and rebaudioside A exhibit weak antidiabetic potential through the mechanism of  $\alpha$ -glucosidase inhibition. Stevioside (IC<sub>50</sub> = 81.11 mg/mL) was shown to have stronger activity compared with rebaudioside A (IC<sub>50</sub> = 257.55 mg/mL), but weaker compared with acarbose (IC<sub>50</sub> = 1.67 mg/mL).

**Key words:** stevioside, rebaudioside A, antidiabetic activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibition

### 1. Introduction

Diabetes is a group of metabolic disorders corresponding to prolonged high blood glucose levels. According to a worldwide survey by the World Health Organization (WHO) (2016), 422 million people were globally affected by diabetes mellitus which will be the 7th leading cause of death by 2030. Currently, treatment of diabetes mellitus includes the use of insulin and a variety of other antidiabetic agents, such as biguanides, sulphonylurea, or glucosidase inhibitors (Akiyode et al. 2017, DeFronzo et al. 2016).

Recently the use of bioactive  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for the treatment of diabetes has been proven to be the most efficient remedy for controlling postprandial hyperglycemia and its detrimental physiological complications, especially in type 2 diabetes (Uday et al. 2020). The carbohydrate hydrolyzing enzyme  $\alpha$ -glucosidase is generally competitively inhibited by  $\alpha$ -glucosidase inhibitors and results in delayed glucose absorption in the small intestine, ultimately controlling postprandial hyperglycemia. Anti-diabetic drugs with  $\alpha$ -glucosidase-inhibiting properties such as acarbose, voglibose, miglitol and emiglitate are now commercially available for controlling postprandial hyperglycemia. Synthetic  $\alpha$ -glucosidase inhibitors continue to be prescribed to control blood sugar levels through slowing or reducing the breakdown of carbohydrates in the intestine (Scheen 2003).

The increasing popularity of alternative methods of diabetes treatment begets a growing need to investigate new compounds derived from natural sources, including plants that can help cure diabetes. One of these plants is *Stevia rebaudiana* Bertoni, currently used in the food industry as a safe and calorie-free sweetener because it contains diterpenoid glycosides, exhibiting great sweetening potential (up to 300 times sweeter than table sugar) (Belloir et al. 2017).

*Stevia rebaudiana* Bertoni is a plant native to Central and South America whose leaves contain steviol glycosides (SGs) with high sweetening capacity (Goyal et al. 2010). SGs are compounds derived from steviol (STL), which is glycosylated at C-19 and C-13 replacing the carboxyl hydrogen with glucose, xylose or rhamnose (Chaturvedula et al. 2011). Until now, more than 40 SGs have been identified, and are classified as ent-kaurene-type diterpenes with sugar fractions attached to the aglycone (STL), such as stevioside, rebaudioside A, rebaudioside B, rebaudioside C, rebaudioside D, rebaudioside E, rebaudioside F, dulcoside A, rubusoside and steviolbioside. Stevioside and rebaudioside A (the sweetest compound) represent 5–10% and 2–4% (dry basis) of the leaves, respectively (Ashok et al. 2011, Goyal et al. 2010).

SGs cannot be broken by enzymes such as pancreatic  $\alpha$ -amylase, pepsin and pancreatin found in saliva and gastric secretions, which is why they pass intact through the upper gastrointestinal tract where they are finally hydrolyzed to STL by intestinal bacteria (Ashwell 2015, Iatridis et al. 2022). Therefore, stevia metabolism is dependent on gut microbiota and microbial enzymes that can break down these glycosides into STL that can be absorbed by the human body. However, the effects of stevia on the gut microbiota need to be further investigated (Backer et al. 2020).

SGs and mixtures of SGs have been approved for commercial use as natural, non-caloric high-intensity sweeteners for foods and beverages in the United States and the European Union (E960) (FDA 2012, The EU Commission 2011) with ADI established at the level of 0–4 mg/kg bw expressed as STL equivalents, based on a NOAEL of 970 mg/kg bw per day, from a long-term experimental study with stevioside (383 mg/kg bw per day expressed as STL) and a safety factor of 100, according to WHO/JECFA (WHO/JECFA).

A number of scientific reports showed that stevia preparations or its isolated compounds can exert several health-promoting effects, for instance: antimicrobial/antifungal (Chan et al. 2000), antioxidant (Nowicka and Wojdyło 2016), antihypertensive (Misra et al. 2011), anti-inflammatory (Wang et al. 2014), anti-caries (Cocco et al. 2019), anticancer (Gupta et al. 2017) and antidiabetic activity (Chan et al. 2000, Mejia and Pearlman 2019). Concerning the antidiabetic activity of stevia and its derivatives, scientific reports have shown inconsistent results, mostly due to using different fractions of stevia, its extracts or compounds, different doses, duration of treatment, as well as the experimental models (*in vitro*, animal studies, human trials).

Some studies have shown that *S. rebaudiana* extracts have an anti-hyperglycemic activity in diabetic rats (Assaei et al. 2016, Kujur et al. 2010, Misra et al. 2011) and

subsequent studies have attributed this to stevioside as it increases insulin production and lowers blood glucose in rats (Jeppesen et al. 2002, 2003, 2006).

A more detailed evaluation of the therapeutic potential of stevia and SGs, including their antidiabetic potential, was presented in the present authors' previous review article (Kurek and Krejpcio 2019) and therefore will not be repeated in this article.

In previous experimental studies by the authors, performed both *in vitro* (Kurek et al. 2022a) and *in vivo* (Kurek et al. 2021, 2022b), it was shown that SGs (ST, RA) have appreciable antidiabetic potential. Specifically, in the *in vitro* study (Kurek et al. 2021), it was demonstrated that SGs (ST, RA) and STL significantly affect glucose absorption, adipogenesis, lipogenesis and insulin resistance in adipocytes of the 3T3-L1 cell line, with these effects depending on the type and concentration of compounds tested. In addition, it was found that STL is the most active of the investigated compounds that has a positive effect on the processes of adipogenesis, lipogenesis and glucose uptake, among others by affecting the expression of selected genes regulating lipid metabolism.

In the *in vivo* experiment (Kurek et al. 2021) performed on male Wistar rats with type 2 diabetes induced by a high-fat diet and treatment with STZ (hyperglycemia > 400 mg/dL), supplementary SGs (ST, RA, 0.5% and 2.5% of diet, 500 mg and 2500 mg/kg bw) did not affect blood glucose and insulin-related indices but were able to normalize disturbed lipid profile indices (TG, LDL levels) in a dose-dependent manner. The analysis of the expression levels of some insulin signalling-related proteins (GLUT2, GLUT4, IRS, IR, AMPK, AKT, TRPM5) in selected tissues (liver, muscle, adipose tissue and pancreas) did not show significant differences in the treated groups (data not shown). However, several statistically significant correlations were found between some blood biochemical parameters (liver enzymes (ALT, AST), glycemia, insulinemia) and the level of expression of some proteins associated with glucose metabolism (i.e. GLUT-4, IR, IRS) in tissues of diabetic rats. Moreover, it was found that supplementary SGs affected the expression levels of certain genes involved in glucose and lipid metabolism (*Glut4*, *Cebpa* and *Fasn*), depending on the type of the glycoside and its dose, as well as the type of tissue (data not shown), which in part may explain the lipid-regulatory potential of SGs in hyperglycemic conditions.

In the *in vivo* experiment (Kurek et al. 2022b) performed on male Wistar rats with type 2 diabetes induced by a high-fat diet and treatment with STZ (mild hyperglycemia, ca. 200 mg/dL), supplementary SG (ST, RA, 2.5% of diet, 2500 mg/kg bw) combined with L-arginine (2% and 4% of diet, 2000 mg and 4000 mg/kg bw) and Cr(III) (0.001% and 0.005% of diet, 1 and 5 mg/kg bw) did not affect lipid profile indices but markedly improved blood glucose and insulin-related indices. However, an analysis of selected insulin signalling-related protein levels (GLUT2, GLUT4, IRS, IR, AMPK, AKT, TRPM5) in tissues (liver, muscle, adipose tissue, pancreas) did not show significant differences between treated groups (data not shown). The mechanisms of these effects are not fully understood and can be



multifold. One of the possible mechanisms of the observed antidiabetic action of pure SGs could rely on the modulation of carbohydrate digestion and uptake in the gut.

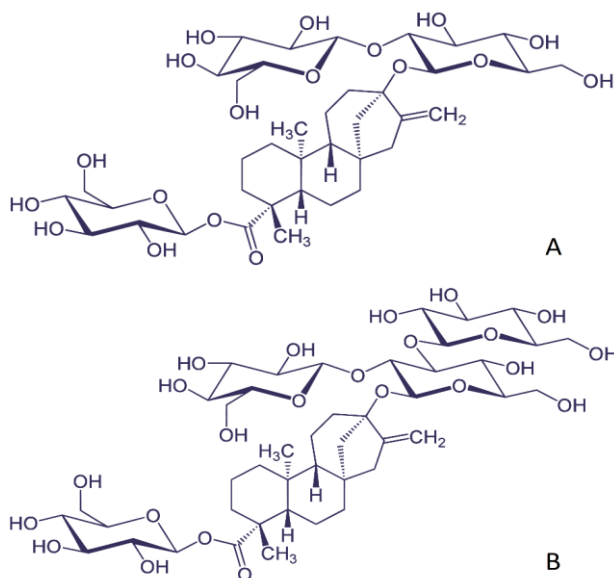
Since information in this regard is lacking, therefore, this study aimed to determine the antidiabetic activity of SGs by assessing  $\alpha$ -glucosidase inhibition *in vitro*.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

#### 2.1.1. Tested compounds

Stevioside (ST) ( $\geq 98\%$ , HPLC, Anhui Minmetals Development Co., Hefei, China) (Fig. 1A); Rebaudioside A (RA) ( $\geq 98\%$ , HPLC, Anhui Minmetals Development Co., Hefei, China) (Fig. 1B); Acarbose (AC) – (Bayer, Germany).



**Figure 1.** Chemical structures of stevioside (A) and rebaudioside A (B) (Kurek et al. 2022a)

#### 2.2.2. Reagents

$\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG),  $\alpha$ -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* (type I, freeze-dried powder,  $\geq 10$  units/mg protein (Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)); Dimethyl sulfoxide (DMSO), pH 6.8 phosphate buffer (Pol-Aura Sp. z o.o., Morąg, Poland); Acarbose (Sigma-Aldrich, Poland) solutions at 1–5 mg/mL concentrations.

### 2.2. Methods

The inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by the test compounds was evaluated using the spectrophotometric method described by Hullatti and Telagari (2015) with minor modifications. Briefly, 50.0  $\mu$ L of the sample at various concentrations dissolved in a mixture of DMSO and water 1:1 (v/v) was deposited on a 96-well plate together with 50.0  $\mu$ L of 0.1

M phosphate buffer (pH 6.8) and 30.0  $\mu\text{L}$  of  $\alpha$ -glucosidase solution (0.5 U mg/mL). Preincubated at 37 °C for 30 min. 20.0  $\mu\text{L}$  of 5 mM p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside solution was then added in 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8) and incubated at 37 °C for 20 minutes. The reaction was completed by adding 100.0  $\mu\text{L}$  of sodium carbonate (0.2 M) to the mixture. The absorbance of the released p-nitrophenol was measured at 405 nm (Multiskan GO 1510, Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finland). The test was also carried out for acarbose solutions – positive control (1.0–5.0 mg/mL). The absorbance of the enzyme solution without test solution/acarbose served as a control of the total enzyme activity. Absorption in the absence of the enzyme was used as a blind control.

The level of enzyme inhibition was calculated by the formula:

$$\% \text{ inhibition activity} = ((\text{Ac-AS}) / \text{Ac}) \times 100$$

where: AC – control absorbance (100% of enzyme activity), AS – absorbance of the test sample or acarbose.

Three independent experiments were conducted for the tested substances and an average of  $n = 6$  measurements were conducted.

The IC<sub>50</sub> values were calculated using OriginPro 9 software with nonlinear regression. IC values 50 (the amount of test compound/reference substance needed to inhibit 50% of  $\alpha$ -glucosidase activity) were calculated using the linear interpolation method between values above and below 50% of activity.

### 3. Results and discussion

In this study, the antidiabetic potential of pure steviol glycosides (stevioside and rebaudioside A) was expressed as the ability to inhibit  $\alpha$ -glucosidase activity *in vitro*. The results of the experiments are presented in Tables 1–3 and Figure 2. As can be seen in Tables 1–3 and Figure 2, a stronger antidiabetic effect was shown by STs when a dose of 81.11 mg/mL resulted in 50% (IC<sub>50</sub>) inhibition of  $\alpha$ -glucosidase, while RA showed 3-fold weaker inhibitory activity, with IC<sub>50</sub> = 257.55 mg/mL. The tested SGs had much weaker antidiabetic activity than the positive test compound, acarbose, with IC<sub>50</sub> = 1.67 mg/mL.

**Table 1.** The inhibitory potential of STs depending on their concentration in the experimental conditions expressed as the percentage of  $\alpha$ -glucosidase inhibition

Trial #	Concentration of STs in the experimental conditions (mg/mL)				
	12.52	25.04	50.07	100.15	200.29
% of $\alpha$ -glucosidase inhibition					
1	4.31	12.65	33.27	59.17	82.40
2	2.36	10.45	30.23	59.23	80.06
3	4.00	13.55	27.49	59.85	78.34
4	3.89	13.61	34.65	62.81	80.03
5	3.58	12.43	36.09	58.75	80.03
6	3.83	16.54	32.54	58.10	84.54
mean $\pm$ SD	3.66 <sup>a</sup> $\pm$ 0.68	13.21 <sup>b</sup> $\pm$ 2.00	32.38 <sup>c</sup> $\pm$ 3.11	59.65 <sup>d</sup> $\pm$ 1.65	80.90 <sup>e</sup> $\pm$ 2.20
IC50 = 81.11 mg/mL					

Explanations: Data represent the values from six independent trials. Mean values  $\pm$  standard deviation marked with different superscript letters in the same row indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ) (Student's t-test). IC50 – concentration of compound that inhibits  $\alpha$ -glucosidase activity by 50%.

**Table 2.** The inhibitory potential of RA depending on its concentration in the experimental conditions expressed as the percentage of  $\alpha$ -glucosidase inhibition

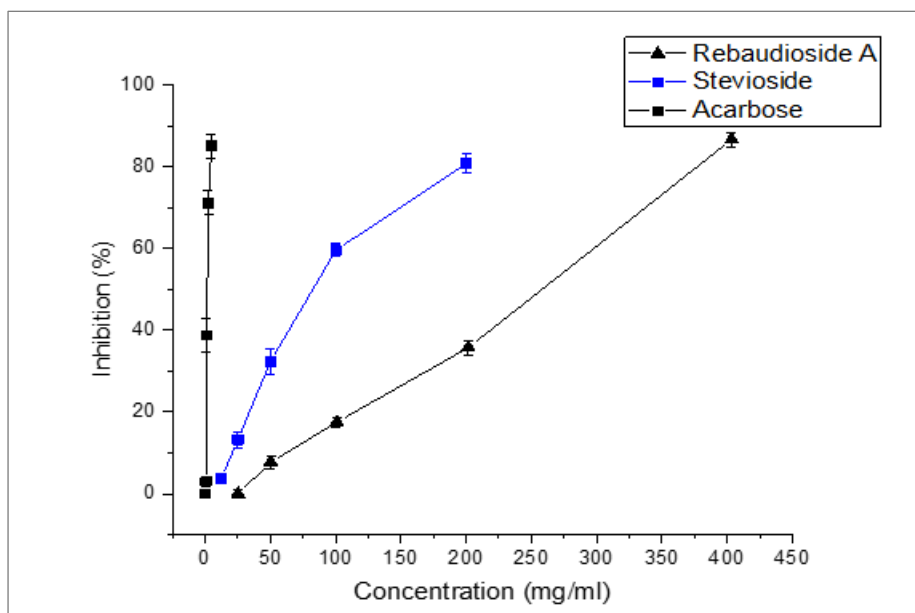
Trial #	Concentration of RA in the experimental conditions (mg/mL)				
	25.21	50.41	100.82	201.64	403.28
% of $\alpha$ -glucosidase inhibition					
1	NA	6.03	16.54	36.90	90.19
2	NA	10.03	19.76	35.87	86.99
3	NA	7.64	17.15	37.90	86.15
4	NA	9.39	16.86	35.998	86.41
5	NA	7.03	18.25	35.35	85.51
6	NA	6.13	16.57	32.61	84.93
mean $\pm$ SD	NA	7.71 <sup>a</sup> $\pm$ 1.67	17.52 <sup>b</sup> $\pm$ 1.27	35.77 <sup>c</sup> $\pm$ 1.79	86.70 <sup>d</sup> $\pm$ 1.86
IC50 = 257.55 mg/mL					

Explanations: The same as for Table 1; NA – no activity

**Table 3.** The inhibitory potential of AC depending on its concentration in the experimental conditions expressed as the percentage of  $\alpha$ -glucosidase inhibition

Trial #	Concentration of AC in the experimental conditions (mg/mL)				
	0.31	0.63	1.25	2.50	5.00
	<b>% of <math>\alpha</math>-glucosidase inhibition</b>				
1	NA	2.59	42.06	74.09	83.69
2	NA	3.29	42.71	72.00	81.96
3	NA	3.29	40.61	72.72	84.84
4	NA	2.45	36.05	71.91	86.60
5	NA	3.26	31.80	71.10	83.52
6	NA	2.81	39.52	65.45	90.26
mean $\pm$ SD	NA	2.95 <sup>a</sup> $\pm$ 0.38	38.79 <sup>b</sup> $\pm$ 4.16	71.21 <sup>c</sup> $\pm$ 3.00	85.15 <sup>d</sup> $\pm$ 2.94
		IC50 = 1.67 mg/mL			

Explanations: The same as for Table 1; NA – no activity

**Figure 2.** Inhibition activity of the test compounds depending on their concentrations

Plant extracts are composed of various bioactive compounds, including polyphenols which can act synergistically, thus their enzyme inhibitory activity is usually stronger compared with isolated pure compounds.

Szczepaniak et al. (2020) investigated the hypoglycemic, antioxidative and phytochemical properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) of three Polish cultivars in the relation between loganic acid content, antioxidant capacity and hypoglycemic effect in vitro. All tested cultivars strongly inhibited  $\alpha$ -glucosidase and had similar amounts of highly bioabsorbable loganic acid. Loganic acid content was similar for each cultivar tested, while the

cultivars differed in the content of flavonoids and anthocyanins. Statistical analysis has shown that hypoglycemic properties are prevalently driven by anthocyanin content and antioxidant capacity, especially ferric-reducing ability partially based on loganic acid properties.

Bashkin et al. (2021) examined the antidiabetic and antioxidant effects of the methanolic extracts of 41 medicinal/edible plants, including *Stevia rebaudiana* extracts. All extracts of these plants were screened for  $\alpha$ -amylase inhibitory activity at a concentration of 2.0 mg/mL. Two of the extracts of *Pelargonium* spp. and *Rhus coriaria* demonstrated high  $\alpha$ -amylase inhibitory activity, inhibiting it by 100% and 82%, respectively, suggesting antidiabetic activity, while *Stevia rebaudiana* extracts at this same concentration inhibited  $\alpha$ -amylase activity by  $35.73 \pm 1.25\%$ .

Brown et al. (2017) evaluated green tea (GT), cranberry (CR) and tart cherry (TC) extracts for their ability to inhibit yeast  $\alpha$ -glucosidase, relevant to glucose uptake. It was found that all tested samples had a dose-dependent inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase. To understand the correlation between the observed inhibitory activities and the different phenolic profiles of the extracts, the authors expressed observations as IC<sub>50</sub> phenolic basis (phenolic content needed for 50% inhibition). Based on the IC<sub>50</sub> values, the CR extract powder had better  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity than the GT or TC extract powders. More specifically, the IC<sub>50</sub> values for the GT, CR and TC extract powders were 68.98, 20.34 and 105.80  $\mu\text{g/mL}$  TPC, respectively. These observations suggest that the phenolic compounds in the CR extract powder have higher in vitro inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase.

Kicel et al. (2022) analyzed the effects of hydromethanolic extracts of *Cotoneaster bulatus* (Cb), *C. Cotoneaster zabeli* (Cz) and *Cotoneaster integerrimus* (Ci) leaves and fruits on  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and non-enzymatic protein glycation. The activity was investigated in relation to the polyphenolic profile of the extracts determined using UV-spectrophotometric and HPLC-PDA-fingerprint methods. It was revealed that all leaf and fruit extracts were promising sources of biological components (caffeic acid pseudodepsides, proanthocyanidins and flavonols), and the leaf extracts of Cb and Cz contained the highest levels of polyphenols (316.3 and 337.6 mg/g in total, respectively). The leaf extracts were also the most effective inhibitors of digestive enzymes and non-enzymatic protein glycation. IC<sub>50</sub> values of 8.6, 41.8 and 32.6  $\mu\text{g/mL}$  were obtained for the most active leaf extract of Cb. The correlations between the polyphenol profiles and activity parameters ( $|r| > 0.72$ ,  $p < 0.05$ ) indicate a significant contribution of pro-anthocyanidins to the investigated activity.

To sum up, this study has determined the antidiabetic potential of pure steviol glycosides by evaluating their  $\alpha$ -glucosidase inhibition. The results showed that ST and RA have weak antidiabetic potential in terms of inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase in vitro, with ST showing 3-fold higher inhibitory activity than RA, which probably results from higher content of the aglycon – STL – in ST. However, these results obtained for SGs (ST,

RA) cannot predict the overall potential of *Stevia rebaudiana* plant extracts, which usually contain a mixture of bioactive compounds, including polyphenols that may enhance the antidiabetic activity. Therefore, the hypothesis calls for testing in further experiments.

#### 4. Conclusions

1. Based on the results of the conducted *in vitro* studies, it can be concluded that both stevioside and rebaudioside A exhibit weak antidiabetic potential through the mechanism of  $\alpha$ -glucosidase inhibition.
2. Stronger activity is shown by stevioside compared with rebaudioside A.
3. Both compounds show much weaker activity than acarbose.

#### Acknowledgement

The presented work is a part of the research project (National Science Centre, Poland, NCN 2017/27/B/NZ9/00677).

#### References

1. Akiyode O. F., Adesoye A. A. (2017). Adverse effects associated with newer diabetes therapies. *Journal of Pharmacy Practice*, 30, 238–244.
2. Ashok K. Y. S., Singh D., Dhyani Ahuj P. S. (2011). A review on the improvement of *S. rebaudiana* [*S. rebaudiana* (Bertoni)]. *Canadian Journal of Plant Science*, 91, 1–27.
3. Ashwell M. (2015). *Stevia*, nature's zero-calorie sustainable sweetener: a new player in the fight against obesity. *Nutrition Today*, 50, 129–134.
4. Assaei R., Mokarram P., Dastghaib S., Darbandi M., Fatemeh Zal F., Akmal M., Omrani G. H. R. (2016). Hypoglycemic effect of aquatic extract of *stevia* in pancreas of diabetic rats: ppargamma-dependent regulation or antioxidant potential. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 8(2), 65-74.
5. Bashkin A., Ghanim M., Basheer Abu-Farich A., Rayan M., Miari R., Srouji S., Rayan A., Falah M. (2021). Forty-one plant extracts screened for dual antidiabetic and antioxidant functions: evaluating the types of correlation between  $\alpha$ -amylase inhibition and free radical scavenging. *Molecules*, 26(2), 317.
6. Becker S. L., Chiang E., Plantinga A., Carey H. V., Suen G., Swoap S. J. (2020). Effect of *stevia* on the gut microbiota and glucose tolerance in a murine model of diet-induced obesity. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(6), fiae079.
7. Belloir C., Neiers F., Briand L. (2017). Sweeteners and sweetness enhancers. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 20(4), 279–285.
8. Brown A. D., Racicot K., Pilkenton S. J., Apostolidis E. (2017). Evaluation of phenolic phytochemical enriched commercial plant extracts on the *in vitro* inhibition of  $\alpha$ -glucosidase. *Front Nutrition*, 4, 56.
9. Chan P. B Tomlinson B., Chen Y. J., Liu J. C., Hsieh M. H., Cheng J. T. (2000). A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50(3), 215-220.

10. Chaturvedula V. S., Upreti M., Prakash I. (2011). Diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Molecules*, 16(5), 3552-3562.
11. Cocco F., Cagetti M. G., Livesu R., Camini N., Pinna R., Lingström P., Campus G. (2019). Effect of a daily dose of snacks containing maltitol or *Stevia rebaudiana* as sweeteners in high caries risk schoolchildren. A double-blind RCT study. *Oral Health Prevention and Dentistry*, 17, 515–522.
12. DeFronzo R., Fleming G. A., Chen K., Bicsak T. A. (2016). Metformin-associated lactic acidosis: current perspectives on causes and risk. *Metabolism*, 65, 20–29.
13. FDA (2012). Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000395; FDA: Silver Spring, MD, USA,
14. Geuns J. M. C., Buyse J., Vankeirsbilck A., Temme E. H. M. (2007). Metabolism of steviol glycoside by healthy subjects. *Experimental Biology and Medicine*, 232(1), 164–173.
15. Goyal S. K., Samsher, Goyal R.K. (2010). *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 61(1), 1-10.
16. Gupta E., Kaushik S., Purwar S., Sharma R., Balapure A. K., Sundaram S. (2017). Anti-cancer potential of Steviol in MCF-7 human breast cancer cells. *Pharmacognosy Magazine*, 13(51), 345–350.
17. Hullatti K., Telagari M. (2015). In-vitro  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions. *Indian Journal of Pharmacology*, 47, 425.
18. Iatridis N., Kougioumtzi A., Vlataki K., Papadaki S., Magklara A. (2022). Anti-cancer properties of *Stevia rebaudiana*; more than a sweetener. *Molecules*, 27, 1362.
19. Jeppesen P. B., Gregersen S., Alstrup K. K. Hermansen K. (2002). Steviol glycoside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine*, 9(1), 9-14.
20. Jeppesen P. B., Gregersen S., Rolfsen S. E., Jepsen M., Colombo M., Agger J., Xiao M., Kruhøffer T., Ørntof K., Hermansen K. (2003). Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of steviol glycoside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism*, 52(3), 372-378.
21. Jeppesen P. B., Dyrskog S. E., Agger A., Gregersen S., Colombo M., Xiao J., Hermansen K. (2006). Can steviol glycoside in combination with a soy-based dietary supplement be a new useful treatment of type 2 diabetes? An in vivo study in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Review of Diabetology Studies*, 3(4), 189-199.
22. Kicel A., Magiera A., Skrzywanek M., Mariola Malczuk M., Olszewska M. A. (2022). The inhibition of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and protein glycation by phenolic extracts of *Cotoneaster bullatus*, *Cotoneaster zabelii*, and *Cotoneaster integerrimus* leaves and fruits: focus on anti-hyperglycemic activity and kinetic parameters. *Molecules*, 27(20), 7081.

23. Kujur R. S., Singh V., Ram M., Narayan Yadava H., Singh K. K., Kumari S., Roy B. K. (2010). Antidiabetic activity and phytochemical screening of crude extract of *Stevia rebaudiana* in alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacognosy Research*, 2(4), 258-263.
24. Kurek J. M., Krejpcio Z. (2019). The functional and health-promoting properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni and its glycosides with special focus on the antidiabetic potential – a review. *Journal of Functional Foods*, 61, 103465.
25. Kurek J. M., Król E., Krejpcio Z. Steviol glycosides supplementation affects lipid metabolism in high-fat fed STZ-induced diabetic rats. *Nutrients* 2021, 13, 112.
26. Kurek J. M., Zielińska-Wasielica J., Kowalska K., Krejpcio Z., Olejnik A. (2022a). Modulating effects of steviol and steviol glycosides on adipogenesis, lipogenesis, glucose uptake and insulin resistance in 3T3-L1 adipocyte model. *Journal of Functional Foods*, 94 105141.
27. Kurek J. M., Król E., Staniek H., Krejpcio Z. (2022b). Steviol glycoside, L-arginine, and chromium(III) supplementation attenuates abnormalities in glucose metabolism in streptozotocin-induced mildly diabetic rats fed a high-fat diet. *Pharmaceuticals*, 15, 1200.
28. Mejia E., Pearlman M. (2019). Natural alternative sweeteners and diabetes management. *Current Diabetes Reports*, 219, 142.
29. Misra H., Soni M., Silawat N., Mehta D., Mehta B. K., Jain D. C. (2011). Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacology and Bioallied Sciences*, 3(2), 242-248.
30. Nowicka P., Wojdyło A. (2016). Stability of phenolic compounds, antioxidant activity and colour through natural sweeteners addition during storage of sour cherry puree. *Food Chemistry*, 196, 925–934.
31. Scheen A. J. (2003). Pathophysiology of Type 2 diabetes. *Acta Clinica Belgica*, 58, 335-341.
32. Szczepaniak O., Cielecka-Piontek J., Kobus-Cisowska J. (2020). Hypoglycaemic, antioxidative and phytochemical evaluation of *Cornus mas* varieties. *European Food Research and Technology*, 247(1), 183-191.
33. The European Commission. Amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council with Regard to Steviol Glycosides. L 295; OJEU: Brussels, Belgium, 2011.
34. Uday H., Kumar D. A., Ghosh S., Sil P. C. (2020). An overview on the role of bioactive  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in ameliorating diabetic complications. *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111738.
35. Wang T., Guo M., Song X., Zhang Z., Fu Y., Cao Y., Zhu L, Zhang N. (2014). Stevioside plays an anti-inflammatory role by regulating the NF- $\kappa$ B and MAPK pathways in *S. aureus*-infected mouse mammary glands. *Inflammation*, 37, 1837–1846.
36. WHO/JECFA (<https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/>).



## Ocena spożycia suplementów diety wspomagających naturalną odporność organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów zawierających witaminę D<sub>3</sub>

Dominika Kwaśny\*, Barbara Borczak, Joanna Kapusta-Duch, Joanna Wiktor

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki*

*\*Autor korespondencyjny: dominika.kwasny@student.urk.edu.pl*

### Streszczenie

W obecnych czasach zaobserwować można widoczny wzrost zainteresowania zdrowym stylem życia, właściwym odżywianiem i aktywnością fizyczną, jak i przyjmowaniem suplementów diety. Popularność tych preparatów związana jest z faktem, iż ciągły pośpiech, stres, nałogi i źle zbilansowana dieta prowadzą do niedoborów witamin i składników mineralnych, które mogą być uzupełniane właśnie za pomocą suplementów diety. Współcześnie jedną z najczęściej suplementowanych substancji jest witamina D<sub>3</sub>. Celem pracy była ocena powszechności przyjmowania suplementów diety wspomagających odporność organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów zawierających witaminę D<sub>3</sub>. Badanie zostało przeprowadzone metodą ankietową wśród młodych dorosłych w wieku 19-25 lat. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, iż stosowanie suplementów diety, w tym preparatów zawierających witaminę D<sub>3</sub>, jest zjawiskiem powszechnym, ponieważ 65% respondentów deklaruowało stosowanie suplementów diety, w tym 66% stanowiły preparaty z witaminą D<sub>3</sub>. Suplementy diety były najczęściej przyjmowane w postaci tabletek, jako preparaty jednoskładnikowe, będące źródłem witamin i składników mineralnych, a przy ich wyborze większość respondentów kierowała się składem danego preparatu.

**Słowa kluczowe:** suplement diety, odporność, witamina D<sub>3</sub>, spożycie

### 1. Wprowadzenie

W dzisiejszych czasach coraz popularniejsze staje się przyjmowanie suplementów diety. Ich włączenie do codziennej diety deklarują zarówno osoby chore, jak i zdrowe. Po tego typu preparaty najczęściej sięgają ludzie starsi, sportowcy, ale coraz częściej także osoby młode, które chcą uzupełnić niedobory m.in. witamin i składników mineralnych w organizmie (Janus i Reguła 2009). Na popularność suplementów diety wpływa obecność wielu reklam, zarówno w telewizji i Internecie, jak i w miejscach publicznych, które przedstawiają liczne korzyści wynikające ze spożywania tego typu preparatów. Obecnie wyróżnia się wiele grup suplementów diety, przy czym najobszerniejszą największą z nich stanowią produkty będące skoncentrowanym źródłem witamin i składników mineralnych.

Ponadto, coraz częściej można spotkać preparaty, które zawierają w swoim składzie surowce roślinne lub ich związki aktywne (Bojarowicz i Dźwigulska 2012).

Bardzo ważnym aspektem jest znajomość różnic pomiędzy lekiem a suplementem diety. Podstawowa różnica między tymi preparatami polega na tym, iż suplement jest środkiem spożywczym, natomiast lek - produktem medycznym. Ponadto, leki to produkty, których zadaniem jest leczenie chorób i im zapobieganie, podczas gdy suplementy diety stosowane są w celu uzupełnienia niedoborów występujących w diecie oraz utrzymania homeostazy organizmu (Zboralska 2011).

Współcześnie jedną z najczęściej suplementowanych substancji jest witamina D<sub>3</sub>. Jej rosnąca popularność i powszechność w różnego rodzaju preparatach wynika z pełnionych w organizmie funkcji, m.in. reguluje ona ciśnienie krwi, zapobiega stanom zapalnym, wpływa na funkcjonowanie serca, jak i stymuluje wydzielanie insuliny. Co więcej, witamina D<sub>3</sub> posiada właściwości immunomodulacyjne i reguluje wzrost komórek (Olędzka 2013). Jest składnikiem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Należy jednak pamiętać, że witaminę D<sub>3</sub> należy dostarczać do organizmu w odpowiednich dawkach. Hipowitaminoza oraz hiperwitaminoza to niebezpieczne stany organizmu, które mogą stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka (Dittfeld i in. 2014).

Celem pracy była ocena powszechności przyjmowania suplementów diety wspomagających odporność organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów zawierających witaminę D<sub>3</sub> przez osoby w przedziale wiekowym 19-25 lat. Ponadto, oceniono wiedzę respondentów z zakresu suplementów diety.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Materiał badany**

Badanie przeprowadzono wśród 116 młodych osób w wieku 19-25 lat w kwietniu 2022 roku. Wśród respondentów przeważały kobiety (72%). Biorąc pod uwagę wiek ankietowanych najliczniejsze grupy stanowiły osoby w wieku 24 lat (32%), 23 lat (23%) oraz 25 lat (17%). Spośród wszystkich respondentów 58% posiadało wykształcenie wyższe, natomiast 40% – wykształcenie średnie. Ankietowani byli w większości mieszkańcami wsi (41%), jak i miast powyżej 500 tys. mieszkańców (37%). Biorąc pod uwagę wskaźnik względnej masy ciała w badanej grupie, niedowagę stwierdzono u 3% mężczyzn i 10% kobiet, prawidłową masę ciała u 70% mężczyzn i 74% kobiet, natomiast nadwagę u 27% mężczyzn i 13% kobiet. Ponadto, u 4% kobiet stwierdzono otyłość.

### **2.2. Metody badań**

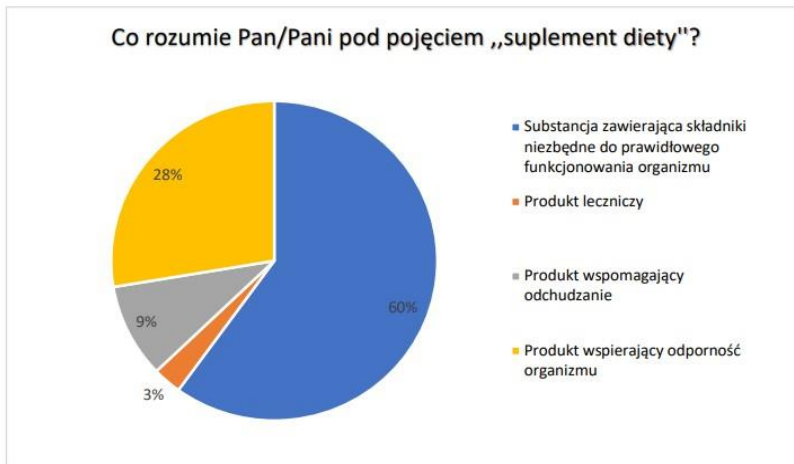
Ankieta była anonimowa, dobrowolna i udostępniona przy pomocy formularza Google. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Rektorskiej Komisji ds. etyki badań naukowych z udziałem ludzi (Wniosek nr 42/2021). W przeprowadzonych badaniach ankietowych zebrano informacje na temat m.in. definicji suplementu diety, częstotliwości spożywania suplementów diety, znajomości różnicy między lekiem a suplementem oraz konsultowania ich spożycia z lekarzem, konsekwencjami wynikającymi ze spożywania

suplementów diety, postaci i rodzaju przyjmowanych preparatów, jak i powodu ich przyjmowania. Respondenci odpowiadali również na pytania dotyczące wiedzy żywieniowej, głównie z zakresu suplementacji witaminą D<sub>3</sub>.

Analiza statystyczna otrzymanych wyników została przeprowadzona za pomocą programu Statistica, z wykorzystaniem test  $\chi^2$  Pearsona, przy poziomie istotności  $p < 0,05$ .

### 3. Wyniki i dyskusja

Pierwsze pytanie dotyczyło definicji suplementu diety. 60% ankietowanych zdefiniowało suplement diety jako substancję zawierającą składniki niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu, natomiast 28% uznało, iż jest to produkt wspierający naturalną odporność organizmu. Z kolei 9% respondentów uznało, że suplement diety to produkt wspomagający odchudzanie, a pozostałe 3% wskazało na produkt leczniczy (rys. 1).



Rysunek 1. Definicja suplementu diety

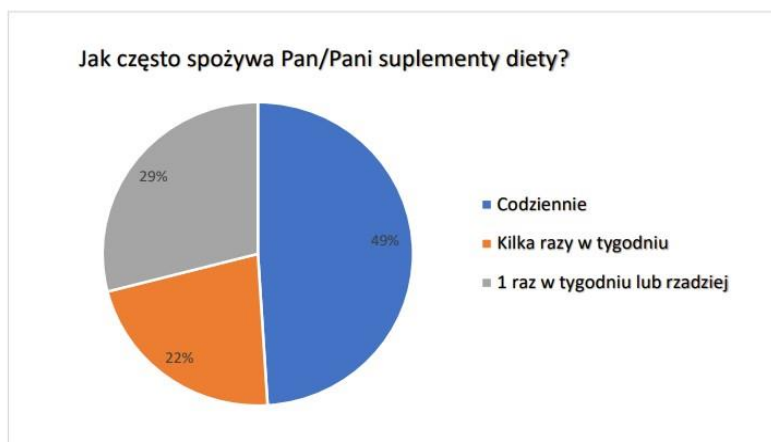
Kolejne pytanie dotyczyło stosowania suplementów diety w aktualnej diecie. 65% respondentów zadeklarowało stosowanie suplementów diety. Nie wykazano zależności pomiędzy stosowaniem tych preparatów w aktualnej diecie, a płcią ( $p = 0,57$ ), wiekiem ( $p = 0,49$ ) oraz wykształceniem ( $p = 0,68$ ). W badaniu Kozłowskiego i in. (2017) stwierdzono, że 68% młodych osób dorosłych stosowało bądź stosuje suplementy diety, natomiast badania Bujko i in. (2005) wykazały, że tego typu preparaty przyjmowało ponad 60% studentów Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW). Podobny wynik otrzymali w swoich badaniach Ciszek i Duma (2013), gdzie 72% ankietowanych stosowało suplementy diety. Z kolei Lebedzińska i in. (2009) wykazali, że ponad 56% studentów z Białegostoku, Gdańska i Grodna suplementowało swoją dietę.

W przeprowadzonych badaniach 96% młodych osób zadeklarowało znajomość różnicy między lekiem a suplementem diety. Nie wykazano zależności pomiędzy wykształceniem, a znajomością tej różnicy ( $p = 0,81$ ).

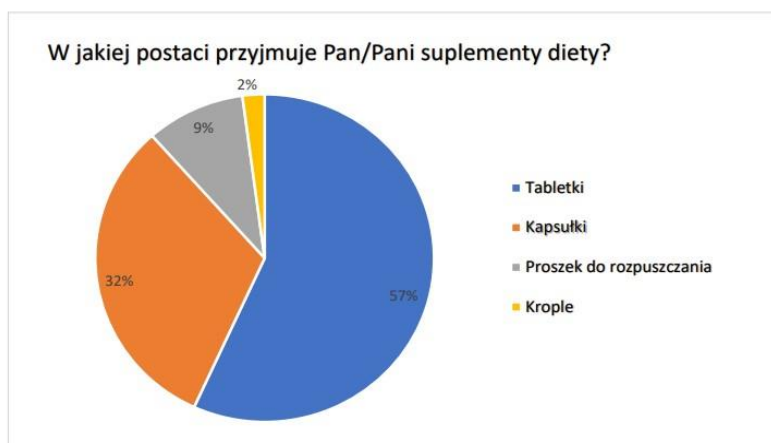
Ponad 50% ankietowanych zadeklarowało, że są zaznajomieni z konsekwencjami wynikającymi ze spożywania suplementów diety. Ponad jedna czwarta respondentów podkreśliła fakt, iż nie była zainteresowana tym tematem bądź nie zastanawiała się nad nim. Nie wykazano zależności pomiędzy znajomością konsekwencji suplementacji, a wykształceniem ( $p = 0,63$ ). W badaniu Ciszek i Dumy (2013), 36% ankietowanych znało zagrożenie związane ze stosowaniem suplementów. Z kolei w badaniu przeprowadzonym przez Schlegel-Zawadzka i Barteczko (2009), 66% respondentów nie znało konsekwencji wynikających z niekontrolowanej suplementacji swojej diety.

Kolejne pytania dotyczyły częstotliwości spożywania suplementów diety oraz postaci przyjmowanych preparatów (rys. 2 i 3). Nie wykazano zależności pomiędzy częstotliwością przyjmowania suplementów, a płcią ( $p = 0,30$ ), wiekiem ( $p = 0,89$ ) oraz wykształceniem ( $p = 0,46$ ). Codzienne spożywanie suplementów diety zadeklarowało 49% ankietowanych. 22% młodych osób przyjmowało suplementy kilka razy w tygodniu, natomiast 29% - raz w tygodniu lub rzadziej. Najpopularniejszą wśród respondentów postacią tych preparatów były tabletki (57%) oraz kapsułki (32%). Ciszek i Duma (2013) wykazali, iż 43% ankietowanych przyjmowało suplementy diety każdego dnia. Podobne wyniki uzyskali Sigłowa i in. (2009), którzy prowadzili badania wśród studentów wybranych uczelni wyższych w Tarnowie i Warszawie. Wykazali oni, iż 48% mężczyzn i 55% kobiet spożywało suplementy diety raz dziennie, natomiast 28% mężczyzn i 22% kobiet przyjmowało preparaty kilka razy w tygodniu.

W przeprowadzonym badaniu, 80% respondentów zadeklarowało, iż nie konsultowało spożycia suplementów diety z lekarzem. Zbliżone wartości uzyskali Ciszek i Duma (2013), którzy wykazali, iż 90% mężczyzn oraz 80% kobiet nie konsultowało suplementacji z lekarzem lub farmaceutą. W badaniach Krejpcio i in. (2013), ponad połowa ankietowanych podjęła decyzję o stosowaniu suplementów diety samodzielnie. Co więcej, Jeżowska-Zychowicz (2007) wykazała, iż 73% studentów SGGW w Warszawie nie konsultowało decyzji o rozpoczęciu suplementacji. Z kolei w badaniu przeprowadzonym wśród studentów Śląskiego Uniwersytetu Medycznego przez Spiołek i in. (2011) wykazano, iż 59% studentów farmacji, 66% studentów kosmetologii oraz 33% studentów analityki medycznej konsultowało wybór odpowiedniego preparatu.

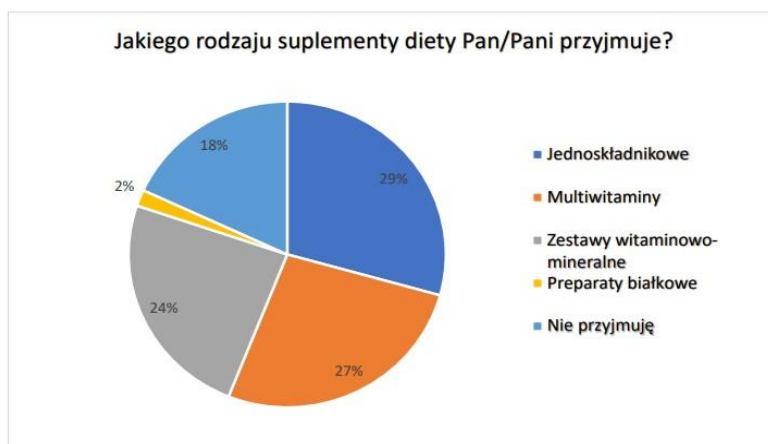


**Rysunek 2.** Częstotliwość przyjmowania suplementów diety



**Rysunek 3.** Forma przyjmowanych suplementów diety

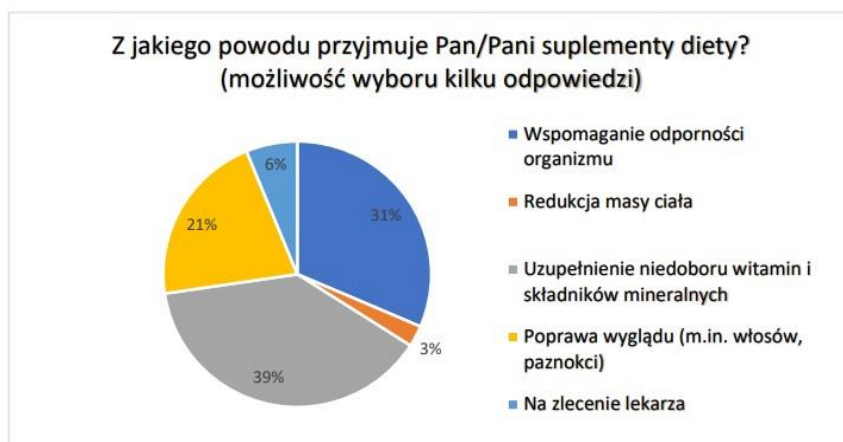
W pytaniu o rodzaj przyjmowanego suplementu diety, najczęściej ankietowanych zadeklarowało spożywanie preparatów jednoskładnikowych (29%), nieco mniej multiwitaminowych (27%) oraz zestawów witaminowo-mineralnych (24%) (rys. 4). Nie wykazano zależności pomiędzy rodzajem przyjmowanych suplementów diety, a wiekiem respondentów ( $p = 0,28$ ), natomiast wykazano zależność ( $p = 0,04$ ) pomiędzy rodzajem przyjmowanych suplementów diety, a płcią. Podobne wyniki uzyskali Krejpcio i in. (2013), którzy wykazali, iż wśród studentów największą popularnością cieszyły się preparaty jednoskładnikowe. W badaniach Zegan i in. (2013), najczęściej wybieranym przez ankietowanych preparatem były zestawy witaminowe (25%). Z kolei-Ciszek i Duma (2013) stwierdzili, iż 81% kobiet i 89% mężczyzn najczęściej sięgało po witaminy, natomiast przyjmowanie składników mineralnych zadeklarowało 47% kobiet oraz 41% mężczyzn. Biezanowska-Kopec i in. (2010) wykazali, iż 56% studentów wybierało preparaty witaminowo-mineralne, 23% multiwitaminowe, a 21% jednoskładnikowe.



**Rysunek 4.** Rodzaj przyjmowanych suplementów diety

Najwięcej osób zadeklarowało, iż celem przyjmowania suplementów diety jest uzupełnienie niedoboru witamin i składników mineralnych (39%), wspomaganie odporności organizmu (21%) oraz poprawa wyglądu m.in. włosów i paznokci (21%) (rys. 5). Zegan i in. (2013), zanotowali, że 66% ankietowanych przyjmowało suplementy diety w celu wspomagania odporności, a 21% – aby zmniejszyć ryzyko choroby. Kozłowski i in. (2017) wykazali natomiast, iż 39% mężczyzn stosowało suplementację w celu zwiększenia odporności organizmu, a 30% kobiet – aby poprawić wygląd cery, włosów oraz paznokci.

51% młodych dorosłych przy wyborze suplementów diety kierowało się informacją o składzie produktu. 28% ankietowanych zadeklarowało, że ważne są dla nich zalecenia lekarza, farmaceuty, dietetyka lub trenera, a także brali pod uwagę cenę (14%). Tylko 6% respondentów przy wyborze odpowiedniego suplementu zwracało uwagę na jego reklamę (rys. 6). Ciszek i Duma (2013) uzyskali podobne wyniki, bowiem 52% mężczyzn oraz 55% kobiet kierowało się składem produktu przy wyborze odpowiedniego preparatu. Z kolei Spiótek i in. (2011) wykazali, iż badani respondenci przy wyborze suplementu diety kierowali się jego składem (90%) oraz ceną (41%).

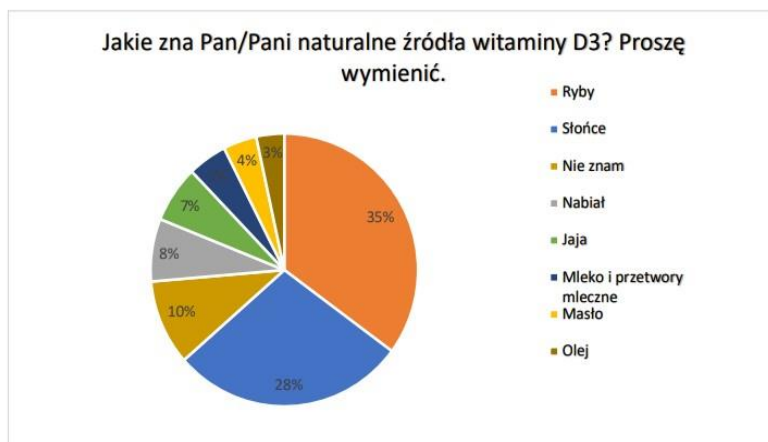


Rysunek 5. Powód przyjmowania suplementów diety

Ważnym aspektem badań była ocena przyjmowania suplementów diety wspomagających naturalną odporność organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów zawierających witaminę D<sub>3</sub>. 66% ankietowanych zadeklarowało przyjmowanie preparatów, które w swoim składzie zawierały witaminę D<sub>3</sub>. Ponadto, 53% respondentów znało dzienne zapotrzebowanie organizmu na tę witaminę. Nie wykazano zależności pomiędzy przyjmowaniem suplementów zawierających witaminę D<sub>3</sub>, a płcią respondentów ( $p = 0,09$ ), znajomością przez nich dziennego zapotrzebowania na tę witaminę oraz ich wiekiem ( $p = 0,40$ ). Jak podaje Olędzka (2013), zapotrzebowanie na witaminę D<sub>3</sub> jest zróżnicowane i w znacznym stopniu zależy od wieku i płci. Zgodnie z Polskimi Normami wystarczające spożycie (AI) witaminy D wynosi 10 µg cholekalcyferolu/dobę dla niemowląt do 12 miesiąca życia, 15 µg dla dzieci do 3 roku życia oraz 10 µg dla dzieci >5 lat i dorosłych (Jarosz i in. 2017).



Rysunek 10. Aspekty ważne przy wyborze suplementu diety



**Rysunek 11.** Najskuteczniejsza metoda wspierania naturalnej odporności organizmu

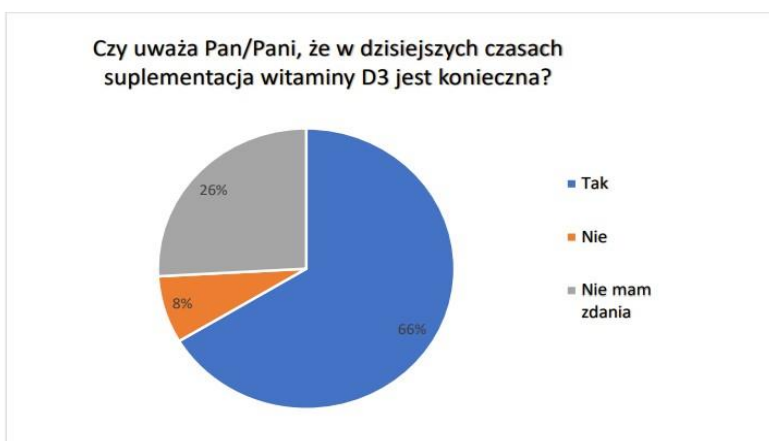
Pytanie otwarte w ankiecie dotyczyło naturalnych źródeł występowania witaminy D<sub>3</sub>. Najczęściej podawaną odpowiedzią były ryby (35%) oraz słońce (jako źródło promieniowania ultrafioletowego UVB, dzięki któremu zachodzi synteza witaminy D w organizmie) (28%). Respondenci wymieniali także nabiał (8%), jaja (7%), mleko i przetwory mleczne (4%), a także masło (4%) i olej (3%). Wśród odpowiedzi pojawiały się także produkty, które nie są źródłem tej witaminy, więc nie były one brane pod uwagę. Jak podaje Kochan i in. (2019), głównym źródłem witaminy D w diecie są tłuste ryby morskie, np. łosoś, śledź i sardynki, a także inne ryby, żółtko jaja kurzego, mięso indyka i kurczaka, wątroba wieprzowa i wołowa oraz mleko i produkty mleczne.

W przeprowadzonych badaniach, 74% ankietowanych stwierdziło, iż suplementy diety zawierające witaminę D<sub>3</sub> są dobrym sposobem wspierania naturalnej odporności organizmu, a 66% uznało, iż w dzisiejszych czasach suplementacja witaminą D<sub>3</sub> jest konieczna. Jako najskuteczniejszą metodę wspierania naturalnej odporności organizmu 82% ankietowanych wskazało prawidłowo zbilansowaną dietę (rys. 11-14). Obniżona odporność organizmu może być związana z pojawianiem się chorób autoimmunizacyjnych (m.in. zapalenie jelit, cukrzyca typu 1, stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów, chorób dermatologicznych), które występują częściej w krajach z ograniczonym dostępem do słońca, a co za tym idzie wśród społeczeństw cierpiących na niedobory witaminy D (Amital i Shoenfeld 2012, Gruber 2015).

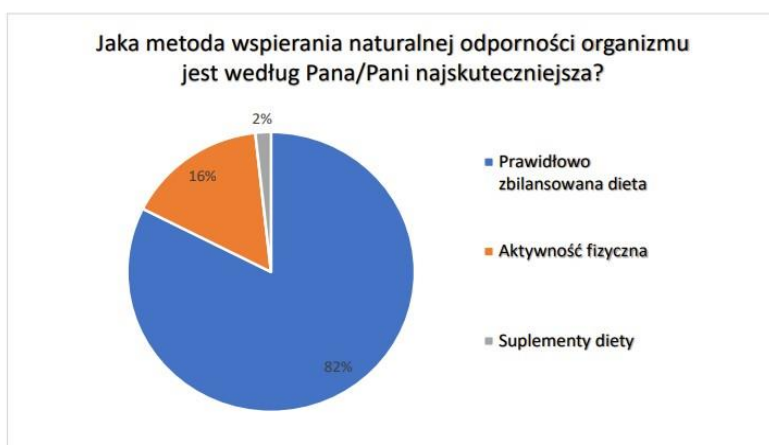




Rysunek 12. Witamina D<sub>3</sub> a wspieranie naturalnej odporności organizmu



Rysunek 13. Konieczność suplementacji witaminy D<sub>3</sub>



Rysunek 14. Najskuteczniejsza metoda wspierania naturalnej odporności organizmu

#### 4. Wnioski

1. Stosowanie suplementów diety jest zjawiskiem powszechnym wśród młodych osób w wieku 19-25 lat. Co więcej, zdecydowana większość respondentów znała różnice między lekiem a suplementem oraz była zaznajomiona z konsekwencjami wynikającymi z suplementacji codziennej diety.
2. Większość ankietowanych deklarowała, że nie konsultuje spożycia suplementów diety z lekarzem, a najczęstszymi rodzajami przyjmowanych preparatów były suplementy jednoskładnikowe, multiwitaminowe oraz zestawy witaminowo-mineralne.
3. Najczęstszym powodem suplementacji, zdaniem ankietowanych, było uzupełnienie niedoboru witamin i składników mineralnych, a najpopularniejszą formą preparatów były tabletki.
4. Przy wyborze suplementu diety respondenci kierowali się przede wszystkim ich składem, a ponad połowa ankietowanych deklarowała, że przyjmuje preparaty zawierające w swoim składzie witaminę D<sub>3</sub> oraz że zna zapotrzebowanie organizmu na tą witaminę i jej źródła występowania w środkach spożywczych.
5. Większość respondentów uważała, iż suplementacja witaminą D<sub>3</sub> jest konieczna, a suplementy z tą witaminą to dobry sposób na wspieranie naturalnej odporności organizmu. Pomimo tego, za najlepsze źródło tego składnika respondenci wskazali dietę, a nie preparaty witaminowe.

#### Literatura

1. Amital H., Shoenfeld Y. (2012). Disease associations of vitamin D in autoimmune disorders - prevention and therapy. *Standardy Medyczne Pediatria*, 9, 620-622.
2. Biezanowska-Kopeć R., Leszczyńska T., Kopeć A. (2010). Suplementacja diety studentów wyższych uczelni województwa małopolskiego witaminami i/lub składnikami mineralnymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(71), 132-140.
3. Bojarowicz H., Dźwigulska P. (2012). Suplementy diety. Część I. Suplementy diety a leki – porównanie wymagań prawnych. *Hygeia Public Health*, 47(4), 427-432.
4. Bojarowicz H., Dźwigulska P. (2012). Suplementy diety. Część II. Wybrane składniki suplementów diety oraz ich przeznaczenie. *Hygeia Public Health*, 47(4), 433-441.
5. Bujko J., Myszkowska-Ryciak J., Nitka I. (2005). Ocena spożycia składników mineralnych wśród studentów SGGW w Warszawie. *Żywność Człowieka i Metabolizm*, 32, supl. 1, cz. I, 655-659.
6. Cizek P., Duma P. (2013). Analiza stosowania suplementów diety i świadomości zagrożeń wynikających z ich pobrania wśród studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 404-412.
7. Dittfeld A., Gwizdek K., Koszowska A., Fizia K. (2014). Wielokierunkowe działanie witaminy D. *Annales Academiae Medicae Silensiensis*, 68(1), 47-52.
8. Gruber B. (2015). Fenomen witaminy D. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 69, 127-139.

9. Janus P., Reguła J. (2009). Popularność suplementów diety wśród młodzieży. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2, 94-97.
10. Jarosz M., Rychlik E., Stoś K., Wierzejska R., Wojtasik A., Charzewska J., Cichocka A. (2017). Normy żywienia dla populacji Polski. Instytut Żywności i Żywienia.
11. Jeżewska-Zychowicz M. (2007). Stosowanie suplementów wśród młodzieży z uwzględnieniem kontroli ich stosowania. *Żywienie Człowieka i Metabolizm*, 1(2), 481-485.
12. Kochan Z., Jędrzejewska K., Karbowska J. (2019). Witamina D w grzybach jadalnych – biosynteza, zawartość, biodostępność i znaczenie w żywieniu. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 73, 662-673.
13. Kozłowski P., Kozłowska M., Kozłowska K. (2017). Ocena powszechności stosowania suplementów diety wśród młodych osób dorosłych. *Journal of Education, Health and Sport*, 7(8), 106-113.
14. Krejpcio Z., Staniek H., Chmielewska A. (2013). Ocena powszechności spożycia suplementów diety w wybranych grupach studentów. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 94(3), 622-625.
15. Lebidzińska A., Szpakow A., Hinc A., Filon J., Szefer P., Karczewski J. (2009). Suplementacja witaminami i biopierwiastkami diety studentów polskich i białoruskich (Gdańsk, Grodno, Białystok). *Żywienie Człowieka i Metabolizm*, 36(1), 55-60.
16. Olędzka R. (2013). Witamina D w świetle badań ostatnich lat. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2, 121-131.
17. Schlegel-Zawadzka M., Barteczko M. (2009). Ocena stosowania suplementów diety pochodzenia naturalnego w celach prozdrowotnych przez osoby dorosłe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 16(4), 375-387.
18. Siğłowa A., Bertrandt B., Conder M., Bertrandt K., Lisiecka A., Kubiak P., Urbańska A. (2009). Suplementacja diety wśród studentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(65), 236-249.
19. Spiótek K., Kościołek A., Kania J., Hartman M., Pawłowska-Góral K. (2011). Czynniki decydujące o zakupie suplementów diety zawierających witaminy i składniki mineralne przez studentów Śląskiego Uniwersytetu Medycznego. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 62(1), 37-40.
20. Zboralska M. (2011). Swobodny przepływ żywności w postaci suplementów diety w świetle orzecznictwa Trybunału Sprawiedliwości Unii Europejskiej. *Przegląd Prawa Rolnego*, 2(9), 83-108.
21. Zegan, M., Michota-Katulaska, E., Gałązka, M., Sińska, B., Kucharska, B. (2013). Suplementy diety i żywność stosowana w celu wspomagania odporności - badania pilotażowe. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 94(4), 910-914.

## **Assessment of the consumption of dietary supplements supporting the body's natural immunity, particularly including preparations containing vitamin D<sub>3</sub>**

### **Abstract**

Nowadays, there is a visible increase in interest in a healthy lifestyle, proper nutrition and physical activity, as well as taking dietary supplements. The popularity of these preparations is related to the fact that constant rush, stress, addictions and an ill-balanced diet lead to vitamin and mineral deficiencies, which can be supplemented with dietary supplements. Nowadays, one of the most frequently supplemented substances is vitamin D<sub>3</sub>. The aim of the study was to assess the widespread use of dietary supplements supporting the body's immunity, with particular emphasis on preparations containing vitamin D<sub>3</sub>. The study was conducted using a survey method among young adults aged 19-25. Based on the results obtained, it can be concluded that the use of dietary supplements, including preparations containing vitamin D<sub>3</sub>, is a common phenomenon as 65% of respondents declared the use of dietary supplements, including 66% of preparations containing vitamin D<sub>3</sub>. Supplements were most often taken as single-component preparations, in the form of tablets, to compensate for vitamin and mineral deficiencies, and their selection was mainly guided by the composition of available preparations.

# Kształtowanie tekstury białka grochowego z wykorzystaniem enzymu sieciującego

Zuzanna Małysek\*, Roman Zielonka, Elżbieta Wojtowicz

*Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Wacława Dąbrowskiego – PIB,  
Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu*

*\*Autor korespondencyjny: [zuzanna.malyszek@ibprs.pl](mailto:zuzanna.malyszek@ibprs.pl)*

## Streszczenie

Jednym ze źródeł białka w diecie są rośliny, szczególnie rośliny strączkowe, które syntetyzują białka, wykorzystując bezpośrednio z powietrza azot. Białka roślin strączkowych gromadzone są przede wszystkim w ich nasionach. Najważniejszą rośliną strączkową w Polsce (z uwagi na klimat) jest groch, który nadaje się do wykorzystania w żywieniu człowieka, a także w hodowli zwierząt, jako składnik pasz. Wyzwaniem dla technologów związanym z oczekiwaniami wegan jest tworzenie nowych wyrobów, stanowiących alternatywy produktów mięsnych i rybnych. Uzyskanie białkowych struktur na podobieństwo tkanki zwierzęcej wiąże się zatem z wyodrębnieniem i skoncentrowaniem białka roślinnego oraz jego aglomeracją.

W niniejszej pracy zrealizowano wstępne badania kształtowania tekstury białka grochowego na bazie sproszkowanego handlowego białka firmy BENE Vobis, co pozwoliło na wyznaczenie podstawowych parametrów technologicznych sieciowania. Dobierano temperaturę i czas procesu zachodzącego z udziałem transglutaminazy. Produkt usieciowany został scharakteryzowany pod kątem wartości parametrów tekstury (twardości, adhezyjności, spójności, sprężystości i gumowatości).

Następnie frakcjonowano i wyodrębniano białko bezpośrednio z nasion grochu tzw. metodą mokrą. Pozwoliło to kontrolować cały proces technologiczny, począwszy od rozdrobienia nasion, poprzez ekstrakowanie składników grochu, a skończywszy na wyodrębnianiu białka z formy skoagulowanej w środowisku kwaśnym za pomocą kwasu cytrynowego. W celu uzyskania nowej tekstury białka i korzystnych właściwości funkcjonalnych oraz w celu intensyfikacji reakcji sieciowania zachodzącej przy zachowaniu stałej dawki transglutaminazy zmieniono czas i temperaturę procesu. Stwierdzono, że otrzymany produkt białkowy o zwartej, twardej teksturze może zwiększyć wykorzystanie białek roślinnych w technologii żywności.

**Słowa kluczowe:** białko roślinne, groch, tekstura, żywność wegańska

## 1. Wprowadzenie

Białko jest podstawowym strukturotwórczym składnikiem organizmów żywych: zwierzęcych i roślinnych. Biopolimer białka składa się z dwudziestu różnych form aminokwasów: endogennych oraz egzogennych. Te ostatnie nie powstają w organizmie człowieka i konieczne jest ich dostarczenie wraz z żywnością. Alternatywą źródeł białka zwierzęcego

może być białko roślinne, które na ogół nie jest pełnowartościowe pod względem zawartości egzogennych aminokwasów, tak jak zboża (np. gluten) czy nasiona roślin strączkowych. Możliwe jest jednak zaspokojenie biologicznego zapotrzebowania człowieka na aminokwasy egzogenne w pełnym stopniu przez wkomponowanie do diety wegańskiej różnego rodzaju roślin. Dla konsumenta ważna jest zarówno wartość odżywcza produktu spożywczego, jak i jego właściwości funkcjonalne. Istotnym parametrem w ocenie produktów żywnościowych, oprócz ich smaku i zapachu, jest tekstura.

Na jakość sensoryczną produktów spożywczych istotnie wpływa zawartość sacharydów, tłuszczu i białek (Szymańska i in. 2012). Na teksturę białek wpływają takie czynniki jak pH, temperatura, wilgotność, substancje chemiczne, enzymy, siła jonowa, obróbka mechaniczna (Soderberg 2013). Właściwości funkcjonalne zależne są od oddziaływania cząsteczek białek z jonami, cząsteczkami wody, lipidami lub sacharydami. Główne właściwości funkcjonalne białka to zwilżalność, pęcznienie, rozpuszczalność, lepkość, rehydratacja, wodochłonność, żelowanie, błonotwórczość, pianotwórczość, tworzenie i stabilizacja emulsji. Białka w trakcie przechowywania lub przetwarzania ulegają przemianom, a w konsekwencji, gdy zawarte są w produktach spożywczych, zmianie ulegają cechy reologiczne, barwa czy zapach takich produktów (Sikorski 2014). Na rynku dostępne są różne substraty białkowe w formie proszku: np. mąka lub grysy frakcjonowane i wzbogacone w białko o zawartości białka około 50%, koncentraty białka o zawartości białka ok. 60-80% oraz izolaty o zawartości białka około 90%. Te preparaty białkowe wytwarza się tradycyjnie poprzez usuwanie w procesie ekstrakcji części niebiałkowych (oleju, cukrów, składników mineralnych).

Ze względu na zwiększające się zainteresowanie społeczeństwa żywnością wegańską, w tym roślinami strączkowymi, pożądane jest wykorzystanie grochu jako naturalnego, taniego i dostępnego w Polsce źródła białka. Choć znaczna część populacji przyzwyczajona jest do typowej żywności dostarczającej organizmowi białka (serów, mięsa, ryb oraz jaj, zawierających cenne, egzogenne aminokwasy) – bardziej lub mniej przetworzonej – dietetycy i producenci żywności w ostatnich latach poszukują produktów pochodzenia roślinnego o wysokiej wartości odżywczej oraz o tzw. „czystej etykiecie”, a także minimalizujących ryzyko chorób cywilizacyjnych i o niskim śladzie węglowym. Dla konsumentów, obok smaku, zapachu i barwy, ważna jest tekstura roślinnych alternatyw sera i mięsa. Stosowane są różne metody ich otrzymywania. Stosuje się na przykład tradycyjne dla serowarstwa metody wytrącania białka, polegające na jego zakwaszeniu lub koagulacji za pomocą enzymu podpuszczki otrzymywanej z żołądków młodych cieląt lub jagniąt (Żelazowski 2016). Około 30 lat temu zainteresowano się sposobami uszlachetnienia białka pochodzenia roślinnego, poprzez jego sieciowanie („sklejanie”). Metodą mikrobiologiczną udało się otrzymać preparat transglutaminazy (Dłużewska i Florowska 2014), wcześniej otrzymywany jedynie z trzustki świnki gwinejskiej, kawii (Kořakowski i Sikorski 2001). Optymalnie sieciowanie za pomocą tego preparatu można prowadzić w zakresie temperatur 5-45 °C i pH 5,5-8,0. W temperaturze powyżej 50 °C transglutaminaza jest niestabilna.

Opracowanie mikrobiologicznej metody produkcji transglutaminazy i obniżenie kosztów produkcji przyczyniło się do wykorzystywania transglutaminazy w branży piekarniczej (Sadowski i Diowski 2016), mleczarskiej (Ziarno i Zaręba 2017) i mięsnej (Pyrz i in. 2014).

Celem niniejszych badań było wytworzenie nowych struktur białka grochowego, twardszych w stosunku do bezpostaciowych mas białkowych wyodrębnionych z nasion grochu. Zakres pracy obejmował opracowanie metody oznaczania cech tekstury z wykorzystaniem handlowego produktu sproszkowanego oraz dobór warunków sieciowania za pomocą transglutaminazy (zawartość białka, dawka enzymu, czas, temperatura). W celu odzwierciedlenia procesów przemysłowych przewidziano symulację doświadczenia sieciowania z wykorzystaniem wilgotnego białka wyodrębnionego bezpośrednio z nasion grochu (bez suszenia). Takie podejście umożliwia śledzenie całego procesu technologicznego i pozwala wpływać na jakość produktu na poszczególnych etapach procesu technologicznego, począwszy od rozdrabniania nasion, aż do etapu sieciowania produktu.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał badany

W badaniach wykorzystano następujące materiały:

- handlowy koncentrat w proszku białka grochowego (BENE) – „Bene Vobis”, dystrybutor: Młyn Oliwski – Gdańsk (zawartość białka 75,8%, zawartość węglowodanów 5,0%, zawartość tłuszczu 5,0%, zawartość wody 8,0%);
- obłuszczone nasiona grochu (odmiana Astronaute) stosowane w procesie technologicznym do wytwarzania koagulatu białkowego (zawartość białka 20,5%, zawartość węglowodanów 65,4%, zawartość tłuszczu 2,2%, zawartość wody 9,5%);
- ekstrakt białkowy skoagulowany otrzymany w skali laboratoryjnej bezpośrednio z nasion grochu;
- enzym mikrobiologiczny transglutaminaza „SapronaTexture S” (STS), 1% czynnego enzymu (kraj pochodzenia Niemcy) na nośniku maltodekstrynowym (kraj pochodzenia Polska); dystrybutor AllTaste Sp z o.o.; charakterystyka: aktywność enzymu 110-120 U/g (Hydroxamat –Test); preparat w formie proszku, barwa beżowa, zapach specyficzny; zawartość węglowodanów 94% (w tym 8% cukrów), zawartość białka 1%; produkt wolny od GMO.

Materiałami pomocniczymi były:

- kwas cytrynowy, krystaliczny, dostawca POCH;
- węglan sodu, krystaliczny, dostawca POCH;
- maltodekstryna śrędniosukrzona, 11,8 DE, wilgotność 5,1%; dostawca „Nowamyl”; stosowana jako wypełniacz w próbkach odniesienia.

## 2.2. Metody badań

### 2.2.1. Metody analityczne

Zastosowano następujące metody badań:

- Oznaczanie zawartości wody wg PN-A-79011-3:1998;
- Oznaczanie gęstości ekstraktów metodą refraktometryczną (refraktometr typ RE40D Mettler Toledo wyskalowany w jednostkach °Bx);
- Oznaczanie zawartości białka wg PB-ZK/PK 09 wyd. 3;
- Oznaczanie strawności wg BN-75/9160-08;
- Oznaczanie zawartości tłuszczu wg PN-A-79011-4:1998;
- Oznaczanie zawartości węglowodanów wg PN-A-79011-6:1998/Az1:2008;
- Oznaczanie zawartości cukrów wg PN-A-79011-5:1998;
- Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego wg PN-A-79011-8:1998;
- Oznaczanie zawartości skrobi wg PN-EN ISO 10520:2002;
- Oznaczanie składu aminokwasowego skoagulowanego białka;
- Wykrywanie skrobi testem jodowym (zmieszanie jednej kropli płynu Lugola z supernatantem i obserwacja barwy – granatowa wskazuje na obecność skrobi);
- Analiza aminokwasów techniką LC-MS/MS (wg SOP M 3123);
- Oznaczanie cech tekstury produktów białkowych – twardości, adhezyjności, spójności, sprężystości, gumowatości (teksturometr TextureAnalyser TXA Stable Micro Systems): dwukrotna penetracja próbki o masie 33 g umieszczonej w naczyniu o średnicy 30 mm sondą cylindryczną o średnicy 10 mm; próbki białkowe z grochu z proszku BENE, o wilgotności 22-23%, próbki białkowe z koagulatu białkowego – z ekstraktu PB, o wilgotności 19-20%.

Wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej. Wyniki przedstawiono jako średnią z trzech oznaczeń  $\pm$  odchylenie standardowe i poddano jednoczynnikowej analizie wariancji ( $p < 0,05$ ). Do wyznaczenia różnic pomiędzy średnimi zastosowano test t-Studenta. Do analiz wykorzystano program Statistica 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

### 2.2.2. Sporządzanie ekstraktu białkowego z nasion grochu

Do 1000 g „grubej mąki” grochowej dodano 3500 g wody (z sieci miejskiej) i całość mieszano przez 1 godzinę (obroty 250/min) w naczyniu o pojemności ok. 6 dm<sup>3</sup>. Operacje mieszania i ekstrakcji prowadzono w temperaturze 20 °C, przy naturalnie uzyskanym odczynie pH 6,5. Po zakończeniu ekstrakcji, kolejnym etapem wyodrębniania białka z nasion grochu było oddzielanie wilgotnych części stałych, tj. wyekstrahowanych mili- i mikrodrobin, od fazy płynnej – ekstraktu, po uprzedniej kontroli obecności skrobi w ekstrakcie (test jodowy). Oznaczono gęstość ekstraktu, pH oraz masę ekstraktu (odpowiednio: 7,8°Bx; 6,5; 2300 g). Uzyskano 2200 g poekstrakcyjnej półsypkiej miazgi o wilgotności 67%, stanowiącej produkt uboczny. Na podstawie powyższych danych zbilansowano frakcje.



### 2.2.3. Wyodrębnianie białka z ekstraktu białkowego z nasion grochu

Z otrzymanego ekstraktu białkowego z nasion grochu wytrącono białko poprzez koagulację kwasowo-termiczną. W tym celu ekstrakt potraktowano kwasem cytrynowym doprowadzając pH ekstraktu do wartości 4,6, podgrzewano w łaźni wodnej do 95 °C, mieszano z szybkością 60 obr./min i termostatowano przez 15 min. Na koniec całość schłodzono do 20 °C. Schłodzoną masę skorygowano do pH 6,5 za pomocą roztworu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. W ekstrakcie oznaczono zawartość wody, białka ogółem, białka strawnego oraz wyznaczono jego strawność.

### 2.2.4. Otrzymywanie koagulatu białkowego i produktu białkowego (PB)

Koagulat białkowy wydzielono poprzez wirowanie białka otrzymanego wg pkt. 2.2.3 przy obrotach 3000 × g, uzyskując osad o koncentracji 19-20% suchej substancji (s.s.). Na koniec surowy koagulat białkowy przemywano wodą użytą w ilości wynoszącej trzykrotność masy osadu, a zawiesinę ponownie wirowano przy obrotach 3000 × g, uzyskując odmyty osad jako produkt białkowy (PB) w ilości 410 g. W koagulacie białkowym oraz w PB oznaczono zawartość wody, białka ogółem, białka strawnego oraz wyznaczono jego strawność i pH. Ponadto oznaczono skład aminokwasowy skoagulowanego białka.

### 2.2.5. Sieciowanie białka

Masę produktu białkowego (PB) wykorzystano do przeprowadzenia procesu sieciowania białka. PB podzielono na dwie części po 200 g i przygotowano próbki PB-0 (bez dodatku enzymu) oraz PB-T (z dodatkiem enzymu STS w dawce 0,8 g). Obie próbki poddano obróbce w temperaturze 45 °C w czasie 6 godzin, schłodzono do 20 °C i przeprowadzono badania ich tekstury.

## 3. Wyniki i dyskusja

Optymalizację warunków sieciowania białka poprzez dobranie odpowiedniej temperatury i czasu reakcji sieciowania prowadzono z wykorzystaniem handlowego białka spożywczego. Przed przystąpieniem do badań przeprowadzono charakterystykę handlowego koncentratu białka grochowego BENE, a wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Podstawowy skład chemiczny białka grochowego BENE

Zawartość			
wody (%)	węglowodanów (%)	białka (%)	Tłuszczu (%)
8,00 ± 0,70	5,00 ± 0,50	75,8 ± 1,50	8,00 ± 0,60

Badania sieciowania białka prowadzono porównując własności próbek sieciowanych z dodatkiem transglutaminazy (BENE-T) z próbkami bez enzymu (BENE-0). Wyniki z optymalizacji procesu sieciowania przedstawiono w tabelach 2-4.

**Tabela 2.** Parametry tekstury próbek sieciowanych przez 2 godziny

Symbol próbki	Twardość (N)	Adhezyjność (N × s)	Spójność (-)	Sprężystość (-)	Gumowatość (N)
BENE-0/2 h/5 °C	0,85 <sup>a</sup> ± 0,02	-5,34 <sup>a</sup> ± 0,05	0,50 <sup>a</sup> ± 0,04	0,76 <sup>a</sup> ± 0,01	0,42 <sup>a</sup> ± 0,05
BENE-T/2 h/5 °C	1,02 <sup>b</sup> ± 0,03	-4,71 <sup>b</sup> ± 0,05	0,33 <sup>b</sup> ± 0,03	0,78 <sup>a</sup> ± 0,01	0,40 <sup>a</sup> ± 0,05
BENE-0/2 h/20 °C	1,35 <sup>c</sup> ± 0,03	-8,51 <sup>c</sup> ± 0,06	0,45 <sup>c</sup> ± 0,04	0,83 <sup>b</sup> ± 0,02	0,61 <sup>b</sup> ± 0,06
BENE-T/2 h/20 °C	2,99 <sup>d</sup> ± 0,04	-6,63 <sup>d</sup> ± 0,06	0,34 <sup>d</sup> ± 0,03	0,82 <sup>b</sup> ± 0,02	1,17 <sup>c</sup> ± 0,10
BENE-0/2 h/40 °C	1,60 <sup>e</sup> ± 0,03	-6,88 <sup>e</sup> ± 0,06	0,38 <sup>d</sup> ± 0,03	0,70 <sup>c</sup> ± 0,01	0,61 <sup>d</sup> ± 0,06
BENE-T/2 h/40 °C	4,00 <sup>f</sup> ± 0,07	-4,85 <sup>f</sup> ± 0,05	0,39 <sup>d</sup> ± 0,03	0,82 <sup>d</sup> ± 0,02	1,56 <sup>e</sup> ± 0,11

Objaśnienia: Oznakowanie próbek: 0 – próbka bez transglutaminazy, T – próbka z dodatkiem transglutaminazy; różne litery przy średnich (n = 3) w kolumnach wskazują na istotne statystycznie różnice pomiędzy średnimi (test t-Studenta, p < 0,05).

**Tabela 3.** Parametry tekstury próbek sieciowanych przez 24 godziny

Symbol próbki	Twardość (N)	Adhezyjność (N × s)	Spójność (-)	Sprężystość (-)	Gumowatość (N)
BENE-0/24 h/5 °C	1,07 <sup>a</sup> ± 0,03	-7,73 <sup>a</sup> ± 0,07	0,42 <sup>a</sup> ± 0,04	0,72 <sup>a</sup> ± 0,01	0,45 <sup>a</sup> ± 0,05
BENE-T/24 h/5 °C	1,12 <sup>a</sup> ± 0,03	-5,12 <sup>b</sup> ± 0,05	0,33 <sup>a</sup> ± 0,03	0,66 <sup>b</sup> ± 0,01	0,37 <sup>a</sup> ± 0,04
BENE-0/24 h/20 °C	1,34 <sup>b</sup> ± 0,03	-2,38 <sup>c</sup> ± 0,03	0,19 <sup>b</sup> ± 0,02	0,86 <sup>c</sup> ± 0,02	0,25 <sup>b</sup> ± 0,02
BENE-T/24 h/20 °C	3,45 <sup>c</sup> ± 0,04	-5,85 <sup>d</sup> ± 0,05	0,35 <sup>c</sup> ± 0,03	0,92 <sup>d</sup> ± 0,02	1,05 <sup>c</sup> ± 0,09
BENE-0/24 h/40 °C	1,43 <sup>d</sup> ± 0,03	-3,37 <sup>e</sup> ± 0,04	0,25 <sup>d</sup> ± 0,02	0,56 <sup>e</sup> ± 0,01	0,36 <sup>d</sup> ± 0,04
BENE-T/24 h/40 °C	5,56 <sup>e</sup> ± 0,06	-3,32 <sup>e</sup> ± 0,04	0,36 <sup>e</sup> ± 0,03	0,82 <sup>f</sup> ± 0,02	2,00 <sup>e</sup> ± 0,12

Objaśnienia: jak pod tabelą 2

**Tabela 4.** Parametry tekstury próbek sieciowanych przez 6 godzin

Symbol próbki	Twardość (N)	Adhezyjność (N × s)	Spójność (-)	Sprężystość (-)	Gumowatość (N)
BENE-0/6 h/45 °C	1,56 <sup>a</sup> ± 0,03	-5,24 <sup>a</sup> ± 0,05	0,34 <sup>a</sup> ± 0,03	0,68 <sup>a</sup> ± 0,01	0,53 <sup>a</sup> ± 0,05
BENE-T/6 h/45 °C	4,11 <sup>b</sup> ± 0,07	-4,72 <sup>b</sup> ± 0,05	0,37 <sup>a</sup> ± 0,03	0,79 <sup>b</sup> ± 0,01	1,52 <sup>b</sup> ± 0,11

Objaśnienia: jak pod tabelą 2

Wyniki badań tekstury wykazały, że twardość i gumowatość próbek wzrasta po sieciowaniu. Po sieciowaniu w danym czasie, wzrost temperatury w zakresie 5-40 °C powoduje wzrost twardości próbek białkowych. Adhezyjność, która wywołuje niekorzystne wrażenia teksturalne wśród konsumentów, zmniejszyła się wskutek przeprowadzenia reakcji sieciowania trwającej 2 h, natomiast w przypadku próbki sieciowanej przez 24 h w temperaturze 20 °C zwiększyła się. Istotny wpływ na zwiększenie twardości, adhezyjności i gumowatości zauważono dla temperatury 40 °C. W tabeli 4 przedstawiono wyniki badań procesu sieciowania zachodzącego w temperaturze 45 °C, przy skróconym czasie (6 h). Celem tych badań było sprawdzenie, czy enzym w tej temperaturze będzie aktywny i w konsekwencji, czy sieciowanie zmieni teksturę produktu, bowiem z danych literaturowych wiadomo, że w temperaturze 50 °C transglutaminaza jest nieaktywna. Czas procesu został skrócony z powodów ekonomicznych, a także dla osiągnięcia stabilności produktu.

Uzyskane wyniki są zbliżone do wyników uzyskanych dla próbek sieciowanych przez 2 h w temperaturze 40 °C (tab. 2).

Zmiany tekstury próbek białka oceniono także organoleptycznie. Stwierdzono, że próbki usieciowane charakteryzowały się bardziej zbitą, twardą strukturą, która po zmiażdżeniu była bardziej sypka, mniej mazista.

Przeprowadzone badania wstępne z wykorzystaniem handlowego produktu sproszkowanego BENE pozwoliły na wyznaczenie podstawowych parametrów technologicznych sieciowania białka. Jednakże w przypadku produkcji w dużej skali, bardziej racjonalne jest sieciowanie białka wyodrębnionego bezpośrednio z grochu.

Przed przystąpieniem do badań określono skład chemiczny nasion grochu. Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 5. Etapy otrzymywania własnego preparatu białkowego obejmowały: mielenie nasion (rozkład granulometryczny przedstawiono w tabeli 6), ekstrakcję białka z nasion grochu, skoagulowanie ekstraktu białkowego z nasion grochu, odwirowanie i przemycie osadu. Dodatkową korzyścią sieciowania białka bezpośrednio po jego wyodrębnieniu z grochu była możliwość śledzenia całego procesu technologicznego i wpływania na poszczególne jego etapy – od rozdrabniania nasion aż do usieciowania białka – a tym samym kontrolowania właściwości fizykochemicznych i reologicznych produktu końcowego.

**Tabela 5.** Podstawowy skład obtuszczonego nasion grochu

	Zawartość (%)				
	wody	węglowodanów/ skrobi	białka	tłuszczu	popiołu
w świeżej masie	9,5 ± 0,80	65,4 ± 2,11/ 48,2 ± 2,14	20,5 ± 1,11	2,18 ± 0,80	2,54 ± 0,80
w suchej substancji	0	31,0 ± 1,52/ 11,1 ± 0,90	22,7 ± 1,12	2,41 ± 0,80	2,81 ± 0,80

**Tabela 6.** Rozkład granulometryczny rozdrobnionych nasion grochu – „grubej mąki”

Udział (%) frakcji					
< 0,125 mm	0,40-0,80 mm	0,125-0,40 mm	0,80-1,0 mm	1,0-1,6 mm	> 1,6 mm
4,4%	26,3%	26,4%	8,7%	28,6%	5,6%

Charakterystykę ekstraktu białkowego z nasion grochu przedstawiono w tabeli 7.

**Tabela 7.** Skład chemiczny i strawność ekstraktu białkowego z nasion grochu

wody	Zawartość (%)		Strawność (%)
	białka ogółem	białka strawnego	
94,80 ± 0,90	3,11 ± 0,5	2,85 ± 0,5	91,6 ± 0,90

Wyniki badań skoagulowanego ekstraktu białkowego oraz produktu białkowego przedstawiono, odpowiednio, w tabeli 8 i w tabeli 9. Wyniki dodatkowej analizy składu aminokwasowego skoagulowanego białka wykazały, iż wśród 20 oznaczonych aminokwasów

ponad połowę udziału stanowiły w nim łącznie: kwas glutaminowy (18,86%), kwas asparaginowy (12,42%), arginina (8,28%), lizyna (7,82%) oraz leucyna (6,90%).

**Tabela 8.** Charakterystyka chemiczna i fizyczna skoagulowanego ekstraktu białkowego z nasion grochu

wody	Zawartość (%)		Strawność (%)	Temperatura obróbki (°C)	pH
	białka ogółem	białka strawnego			
94,04 ± 0,90	3,28 ± 0,5	2,93 ± 0,5	89,3 ± 0,90	91	4,65

**Tabela 9.** Charakterystyka chemiczna i fizyczna produktu białkowego (PB)

wody	Zawartość (%)		Strawność (%)	Temperatura obróbki (°C)	pH
	białka ogółem	białka strawnego			
81,1 ± 0,80	12,95 ± 0,7	11,63 ± 0,7	89,8 ± 0,90	45	6,5

Porównano cechy tekstury białka usieciowanego PB-T (z enzymem) z próbką odniesienia PB-0 (bez enzymu). Wyniki badań tekstury (tab. 10) świadczą o zintensyfikowaniu procesu sieciowania białka.

**Tabela 10.** Parametry tekstury produktu białkowego (PB)

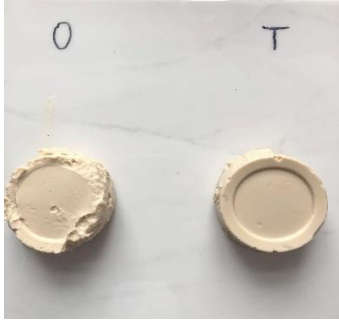
Symbol próbki	Twardość (N)	Adhezyjność (Nxs)	Spójność (-)	Sprężystość (-)	Gumowatość (N)
PB-0/6 h/45 °C	4,30 <sup>a</sup> ± 0,47	-44,38 <sup>a</sup> ± 2,05	0,38 <sup>a</sup> ± 0,03	0,72 <sup>a</sup> ± 0,02	2,15 <sup>a</sup> ± 0,38
PB-T/6 h/45 °C	17,50 <sup>b</sup> ± 1,46	-39,71 <sup>a</sup> ± 1,92	0,50 <sup>b</sup> ± 0,04	0,86 <sup>b</sup> ± 0,03	6,65 <sup>b</sup> ± 0,68

Objaśnienia: jak pod tabelą 2

Wyniki badań tekstury próbki białka po przeprowadzeniu reakcji sieciowania w temperaturze 45 °C przez 6 h wykazały znaczne zwiększenie twardości i gumowatości białka usieciowanego w porównaniu do próbki odniesienia. Działanie enzymu pozwoliło także na uzyskanie większej sprężystości produktu.

Badano także właściwości funkcjonalne (kształt) usieciowanego białka. Konsystencja koagulatu białkowego o zawartości ok. 20% s.s. pozwoliła na łatwe formowanie produktu białkowego. Precyzyjnie dobierając wilgotność masy produktu można wykorzystać masę białkową do wypełnienia foremek lub stworzenia różnych kształtów. Po utwardzeniu produktu w procesie sieciowania w optymalnej temperaturze i czasie nastąpiło utrwalenie kształtu (rys. 1). Przeprowadzono także badanie adhezji usieciowanego produktu białkowego. Dzięki działaniu enzymu transglutaminazy można uzyskać zwartą, zbitą strukturę białka, która jest właściwa dla tworzenia żywności o nowych formach. Produkt usieciowany przybierał kształt matrycy i nie przywierał do ścianek formy; dobrze nadawał się do kształtowania formy opakowania (rys. 1). Następnie określono spójność (kohezję) produktów. Produkt sieciowany wykazywał większą trwałość, wytrzymałość struktury niż produkt bez sieciowania. Przy identycznym nacisku próbka usieciowana zachowywała swój kształt,

zaś próbka bez usieciowana pękała pod naciskiem (rys. 2). Sprawdzano także organoleptycznie twardość produktów. Stwierdzono, że występuje możliwość krojenia próbki białka usieciowanego (T) na plastry (tab. 3), bowiem była ona twardsza od próbki 0, która cechowała się mazistością i smarownością. Wyniki te są zgodne z wynikami instrumentalnego badania twardości próbek (tab. 10).



**Rysunek 1.** Kształt produktu białkowego (przed usieciowaniem – 0; po usieciowaniu – T) po wyjęciu z formy.



**Rysunek 2.** Badanie wytrzymałości struktury produktu białkowego (przed usieciowaniem – 0; po usieciowaniu – T)



**Rysunek 3.** Efekty krojenia produktu białkowego (przed usieciowaniem – 0; po usieciowaniu – T) uformowanego do postaci wałka ( $\Phi$  25 mm)

Na rysunku 4 zostały przedstawione różne propozycje wykorzystania wyizolowanego białka z grochu, usieciowanego – naturalnego lub smażonego.



**Rysunek 4.** Propozycje wykorzystania usieciowanego białka grochowego

#### 4. Wnioski

1. Nasiona grochu stanowią źródło białka, które można łatwo wyizolować poprzez ekstrakcję wodną i koagulację.
2. Koagulacja kwasowo-termiczna (pH 4,6-4,7; temperatura 90-95 °C) jest korzystna z punktu widzenia wydajności, a zneutralizowany, bezpostaciowy koagulat białka grochowego nadaje się do usieciowania.

3. Bezpostaciową masę koagulatu białkowego można sieciować przy wykorzystaniu enzymu transglutaminazy do postaci zwartej, twardej i sprężystej, o konsystencji zbliżonej do konsystencji tkanki komórkowej mięsa.
4. Białko grochowe o zmodyfikowanej teksturze można wykorzystać do projektowania nowych produktów spożywczych, w tym wegańskich.

### Literatura

1. Dłużewska E., Florowska A. (2014). Wykorzystanie transglutaminazy w przemyśle spożywczym. *Przemysł Spożywczy*, 68(1), 21-24.
2. Kołakowski E., Sikorski Z. (2001). Transglutaminaza i jej wykorzystanie w przemyśle żywnościowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2(27), 5-16.
3. Pyrcz J., Kowalski R., Kostecki A., Danyluk B. (2014). Technologiczna przydatność enzymu transglutaminazy i soli fosforanowej w produkcji kutrowanych kiełbas parzonych. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 19(4), 315-320.
4. Sadowski A., Diowski A. (2016). Właściwości transglutaminazy i jej rola w piekarstwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5 (108), 9-17.
5. Sikorski Z. E. (2014). Białka - budowa i właściwości. *Chemia żywności: sacharydy, lipidy i białka*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 167-201.
6. Soderberg I. (2013). Functional properties of legume proteins compared to egg proteins and their potential as egg replacers in vegan food. Master Thesis. Upsold: Swedish University of Agricultural Sciences, 3-18.
7. Szymańska I., Zbikowska A., Mitrosz P. (2018). Białka - charakterystyka, właściwości i ich alternatywne źródła. *Przemysł Spożywczy*, 72(12), 26-29.
8. Ziarno M., Zaręba D. (2017). Transglutaminaza w produktach mleczarskich. *Forum Mleczarskie Biznes*, 4(30), 24-29.
9. Żelazowski P. (2016). Enzymy w mleczarstwie. *Przegląd wybranych prac w zakresie enzymologii*, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, 1, 125-135.
10. PN-A-79011-3:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody.
11. PB-ZK/PK 09 wyd.3. Oznaczenie azotu metodą Kjeldahla i przeliczenie na białko.
12. BN-75/9160-08. Oznaczanie ciał azotowych strawnych.
13. PN-A-79011-4:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
14. PN-A-79011-6:1998/Az1:2008. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie wartości kalorycznej.
15. PN-A-79011-5:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości cukrów.
16. PN-A-79011-8:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego i popiołu nierozpuszczalnego w 10% (m/m) roztworze kwasu chlorowodorowego.

17.PN-EN ISO 10520:2002. Skrobia naturalna. Oznaczanie zawartości skrobi. Metoda polarymetryczna Ewersa.

## **Pea protein texture shaping using a crosslinking enzyme**

### **Abstract**

An important source of protein in the diet are plants, especially legumes, which synthesize proteins by using nitrogen directly from the air. Legume proteins are accumulated primarily in their seeds. The most important legume in Poland due to the climate is peas, which are suitable for use in human nutrition, as well as in animal husbandry, as a feed ingredient. The challenge for technologists and the expectation of vegans is to create new products that will be alternatives to meat and fish products. It is therefore important not only to extract and concentrate the protein from plants, but also to agglomerate it and obtain protein structures similar to animal tissue.

In this work, preliminary studies of pea protein texture shaping based on BENE Vobis commercial protein powder were carried out, which allowed to determine the basic parameters of crosslinking technological methods. The temperature and process time were selected with using a constant dose of the transglutaminase enzyme. The cross-linked product was characterized in terms of texture parameters (hardness, adhesiveness, cohesiveness, springiness and gumminess). Then the protein was fractionated and extracted directly from the pea seeds by the wet method. This allowed to control the entire technological process involving crushing the seeds, extraction of pea components and extraction of protein from the form coagulated in an acidic environment using citric acid. In order to modify the texture and beneficial functional properties of the protein and to intensify the reaction, crosslinking was modified by changing time and temperature of the process, while maintaining a constant dose of the transglutaminase enzyme.

The resulting compact, hard texture of vegetable proteins can increase the utilization of vegetable proteins.

# Wpływ naparów herbat na wzrost wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego

Magdalena Michalczyk

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Biotechnologii i Ogólnej Technologii Żywności  
magdalena.michalczyk@urk.edu.pl

## Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu naparów herbacianych na wzrost wybranych bakterii fermentacji mlekowej. Zastosowano napary herbaty czarnej (dwa rodzaje), zielonej (dwa rodzaje) i Pu-erh. Testowanymi szczepami były *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*). Po czasie inkubacji we wszystkich próbach nastąpił wzrost liczby bakterii. Jedynie w przypadku *L. fermentum* przyrost liczby bakterii we wszystkich próbach zawierających napary był mniejszy niż w próbie kontrolnej. W odniesieniu do *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* hamujące lub stymulujące wzrost mikroorganizmów działanie dotyczyło pojedynczych naparów. W przypadku *Lactobacillus acidophilus* nie stwierdzono ani istotnej inhibicji, ani też stymulacji wzrostu bakterii przez herbaty obecne w płynnych podłożach MRS.

**Słowa kluczowe:** LAB, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, herbata, napar

## 1. Wprowadzenie

Bakterie mlekowe (LAB) umożliwiają otrzymanie wielu tradycyjnych wyrobów mleczarskich, niektórych mięsnych oraz kiszonych produktów roślinnych. Produkty poddane fermentacji mlekowej stanowią szeroki asortyment o zróżnicowanych cechach sensorycznych oraz zawartości składników istotnych w diecie. Wśród produktów fermentacji mlekowej wymieniane są - oprócz kwasu mlekowego - bioaktywne peptydy, witaminy, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, egzopolisacharydy i sprzężony kwas linolowy (Leeuwendaal i in. 2022, Li i in. 2022, Pandit i in. 2012). W produktach poddanych fermentacji mlekowej występują bakterie m.in. *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, ale też inne jak np. *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* czy *Leuconostoc* (Leeuwendaal i in. 2022). *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*) izolowano zarówno z fermentowanych produktów mlecznych, roślinnych, jak i zakwasu chlebowego (Dan i in. 2015). LAB stanowią też istotną część mikrobioty układu pokarmowego człowieka. W mikrobiocie tej najliczniejszą grupą bakterii mlekowych stanowią bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*. Mniejszy udział mają te należące do *Lactobacillus* (Hove i in, 1999, Libudzisz 2002). Pomimo, że rola bakterii mlekowych jest przedmiotem pewnych kontrowersji dotyczących m.in. ich skuteczności w łagodzeniu niektórych zaburzeń funkcjonowania układu pokarmowego (Goldstein i in. 2015, Hove 1999, Koirala



i Anal 2021, Passione 2012), to generalnie przypisuje się im wiele dobroczynnych funkcji, które dla szczepów probiotycznych zostały potwierdzone. Wśród funkcji tych znalazły się: hamowanie rozwoju mikroorganizmów chorobotwórczych oraz działanie immunomodulacyjne, a także obniżanie aktywności enzymów fekalnych, udział w rozkładaniu laktozy i produkcji związków istotnych z żywieniowego punktu widzenia (Goderska i in. 2012, Hove 1999, Koirala i Anal 2021, Libudzisz 2002, Nowak i in. 2010, Perdigón i in. 2002, Saarela i in. 2002, Zielińska i Kołożyn-Krajewska 2018). Wyżej wymienione cechy wpływają na popularność wśród konsumentów produktów probiotycznych. Na rynku dostępne są zarówno drobnoustroje probiotyczne w formie liofilizatów, jak i zawarte w produktach spożywczych. Yilmaz-Ersan i in. (2020) podają, że rynek tych wyrobów rozrasta się, szczególnie w regionie Azji i Pacyfiku, natomiast w Europie z uwagi na prawodawstwo obserwuje się jego wolniejszy rozwój. Wśród bakterii probiotycznych znajdują się m.in. te należące do *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Właściwości probiotyczne wykazują m.in. szczepy należące do *B. bifidum*, *B. infants*, *B. lactis* i *L. acidophilus*, takie jak np. *L. acidophilus* LA5, *B. lactis* 420, *B. bifidum* ATTC-29521 (Shori 2022). Na przeżywalność *Bifidobacterium* w produktach spożywczych, oprócz szeregu czynników, takich jak pH, dostępność składników odżywczych, koncentracja metabolitów, obecność innych drobnoustrojów i czas przechowywania, wpływają również składniki fitochemiczne (Shori 2022). Zainteresowanie mogą budzić również produkty funkcjonalne zawierające oprócz bakterii probiotycznych inne składniki pochodzenia roślinnego znane z korzystnego działania na organizm człowieka oraz produkty fermentowane na bazie herbat (Janiak i in. 2018, Jin i in. 2021, Li i in. 2022, Lima i in. 2022, Silva i in. 2022).

Herbata zaliczana jest do najbardziej popularnych napojów na świecie m.in. dzięki wysokiej zawartości związków fenolowych (Yang i Landau 2000). Liście herbaty zawierają także alkaloidy, olejki eteryczne, aminokwasy, polisacharydy, witaminy, składniki mineralne (Sharangi 2009). Znaczna część przeprowadzonych badań dotyczących wpływu spożycia herbaty na choroby sercowo-naczyniowe, nowotwory, otyłość, funkcje odpornościowe i stany zapalne organizmu sugeruje, że jej spożywanie może mieć korzystny wpływ na zdrowie (Hamer 2007, Keller i Wallace 2021, Liu i in. 2020, Quan i Vuong 2014, Yang i Landau 2000). Wang i in. (2020) podają, że spożycie herbaty, w zależności od dawki, może zmniejszać śmiertelność z powodu chorób sercowo-naczyniowych.

Najpopularniejsza na świecie jest fermentowana herbata czarna, mniej popularna jest niepoddana fermentacji herbata zielona, a jeszcze mniejszy udział w produkcji mają Pu-erh i poddawana częściowej fermentacji herbata oolong (Almajano i in. 2008). Charakterystycznymi związkami fenolowymi zielonej herbaty są katechiny, natomiast czarnej – tearubiginy i teaflawiny (Yang i Landau 2000). W przypadku herbaty Pu-erh stosuje się różnorodne techniki produkcji, które wynikają z tradycji obowiązującej w danym regionie (Ahmed i in. 2010). W trakcie wytwarzania tej herbaty oksydaza polifenolowa zawarta w liściach jest inaktywowana, a składniki fenolowe są utleniane głównie poprzez enzymy wytwarzane przez mikroflorę obecną w surowcu (Chen i in. 2017). W procesie fermentacji

Pu-erh biorą udział zarówno bakterie jak i grzyby, w tym te należące do *Aspergillus* spp. (Zhang i in. 2016).

Jak zauważyli Rodríguez i in. (2009) w produktach fermentowanych takich jak: oliwki, kiszona kapusta czy ogórki występują jedynie nieliczne gatunki bakterii mlekowych, które biorą udział w fermentacji surowca. Wśród tych szczepów wymieniane są m.in. *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*), *Lactobacillus paraplantarum* (*Lactiplantibacillus paraplantarum*), *Lactobacillus pentosus* (*Lactiplantibacillus pentosus*), *Lactobacillus brevis* (*Levilactobacillus brevis*), *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* oraz *Pediococcus pentosaceus* (Rodríguez i in. 2009). *Lactobacillus paraplantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*) był również izolowany z liści herbaty (Gharaei-Fathabad i Eslamifar 2011). Cytowani autorzy podają, że bakterie te występowały zarówno w próbach herbaty zielonej, jak i czarnej i potencjalnie mogły wykazywać właściwości probiotyczne hamując w warunkach *in vitro* namnażanie m.in. *Salmonella Typhi* czy *Staphylococcus aureus*.

Wpływ polifenoli na mogące się rozwijać w jelitach człowieka bakterie patogenne był przedmiotem wielu badań naukowych, niemniej jednak mniej uwagi poświęcono ocenie wpływu składników fenolowych na wzrost i przeżywalność bakterii kwasu mlekowego (Hervert-Hernández i Goñi 2011). Stąd też celem niniejszej pracy była ocena wpływu naparów z herbaty o różnym stopniu fermentacji na wzrost wybranych szczepów bakterii mlekowych.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał badany

Materiał badawczy stanowiły napary uzyskane z następujących herbat: czarnej liściastej (I), czarnej ekspresowej (II), zielonej liściastej (I), zielonej ekspresowej (II) oraz liściastej Pu-erh. Herbaty pochodzące od różnych producentów zakupiono na lokalnym rynku. Napary uzyskiwano w wyniku zalania 2 g herbaty 100 ml wody destylowanej o temp. 100 °C (herbaty czarne i Pu-erh) i 95 °C (herbaty zielone). Czas parzenia wynosił 5 minut. Uzyskane napary przesączono wstępnie przez sączonej karbowany, a następnie przez filtr membranowy o średnicy porów 0.10 µm (VVLP 04700, Millipore). Przygotowane napary (5 ml) dodawano do podwójnie skoncentrowanego płynnego podłoża MRS (5 ml), natomiast do prób kontrolnych dodawano 5 ml wody destylowanej zamiast naparu herbacianego.

Testowanymi szczepami były: *Bifidobacterium bifidum* PCM 2102, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* PCM 503, *Lactobacillus acidophilus* PCM 2510, *Lactobacillus fermentum* PCM 491 (*Limosilactobacillus fermentum*) pochodzące z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (Wrocław) oraz *Bifidobacterium* sp. KKP 873 pochodzący z Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (Warszawa).

### 2.2. Metody badań

Inokulum w badaniach stanowiła 24 godzinna hodowla w podłożu płynnym (MRS). 0,1 ml inokulum dodawano do podłoży zawierających napary oraz do podłoży kontrolnych. Bezpośrednio po inokulacji oraz po okresie ekspozycji wynoszącym od 5 do 6 godzin, zależnie od szczepu, analizowano liczbę bakterii w próbach właściwych oraz równoległe wykonywanych próbach kontrolnych, metodą posiewu wgłębnego (1 ml) na płytki. Hodowle na podłożach MRS prowadzono w temperaturze 37 °C, w warunkach beztlenowych, przez 48 godzin.

Zawartość polifenoli ogółem w naparach herbat oznaczano zgodnie z metodyką Singletona i Rossiego (1965), z zastosowaniem odczynnika Folin-Ciocalteu. Absorbancję mierzono przy długości fali 750 nm z wykorzystaniem spektrofotometru Cecil UV/VIS CE 9500 (Cecil Instruments, Cambridge England). Krzywą wzorcową wykreślono dla kwasu galusowego. Wyniki wyrażono jako ekwiwalent kwasu galusowego (GAE) w mg/L naparu.

Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu Statistica version 13 (TIBCO Software Inc., 2017). Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz weryfikowano istotność różnic testem Tukeya ( $p < 0,05$ ).

### 3. Wyniki i dyskusja

Zawartość polifenoli ogółem w naparach herbat zamieszczono w tabeli 1. Uzyskane wartości nie odbiegały znacząco od danych podawanych w literaturze (Almajano i in. 2008, De Carvalho Rodrigues i in. 2015, Zhao i in. 2019). Najwyższą zawartością polifenoli cechowała się liściasta herbata zielona, a najniższą Pu-erh. Jak podają Chen i in. (2017), w trakcie wytwarzania herbaty czarnej polifenole są utleniane przez zawarte w liściach polifenolooksydazy. W przypadku herbaty Pu-erh, po cieplnej inaktywacji tych enzymów, polifenole były utleniane przez obecne w procesie wytwarzania tej herbaty mikroorganizmy. Działalność mikroorganizmów prowadzi do większych strat polifenoli, w tym katechin, niż działanie polifenolooksydazy.

Herbacie, a zwłaszcza zawartym w niej polifenolom, przypisuje się wiele korzystnych właściwości wynikających m.in. z ich działanie antyoksydacyjne (Sharangi 2009). Związki te mogą mieć także wpływ na mikrobiotę układu pokarmowego (Bond i Derbyshire 2019, Lee i in. 2006). Składniki herbaty charakteryzują się ograniczoną biodostępnością (Koo i Cho 2004). Rezultaty wielu prac, chociaż nie w sposób jednoznaczny, wskazują na hamujący wpływ herbaty bądź jej składników na niektóre szczepy bakterii chorobotwórczych. Przykładowo, Toda i in. (1989) stwierdzili, że ekstrakty zarówno herbaty czarnej, zielonej jak i Pu-erh hamowały aktywność *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* oraz *Plesiomonas shigelloides*. Dodatkowo *Vibrio cholerae* były wrażliwe na ekstrakt czarnej i zielonej herbaty, natomiast żaden z zastosowanych ekstraktów nie wpłynął hamująco na szczepy *Escherichia coli*. Na ekstrakty herbaty czarnej wrażliwe były z kolei *Salmonella Typhi*, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis*, które równocześnie były odporne na ekstrakty herbaty Pu-erh. Almajano i in. (2008) stwierdzili hamujący wpływ naparów białej, zielonej, czerwonej i czarnej herbaty (1,5 g suszu/100 ml) na wzrost *Bacillus cereus* oraz

*Micrococcus luteus* i *Pseudomonas aeruginosa*. W powyższych badaniach wzrost *E. coli* był hamowany bardzo słabo i to jedynie przez ekstrakty białej i zielonej herbaty oraz przez jedną z testowanych mieszanek. Chung i in. (1998) opisali hamujący wpływ kwasu taninowego, galusanu propylu i galusanu metylu, w stężeniach od 100 do 1000 µg/ml, na wzrost takich bakterii jelitowych jak *Bacteroides fragilis*, *Clostridium clostridiforme*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium paraputrificum*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* Typhimurium. Z kolei Kristanti i in. (2014) zanotowali, że napary zielonej herbaty stosowane do konserwowania gotowanej wołowiny przechowywanej przez dwa dni w temperaturze 4 °C pozwoliły na zredukowanie liczby bakterii *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium i *Escherichia coli* poniżej poziomu wykrywalności.

**Tabela 1.** Zawartość polifenoli ogółem w naparach herbacianych

Rodzaj herbaty	mg GAE/l
Pu-erh	440,6 ± 10,85a
Czarna I	1414,9 ± 20,19b
Czarna II	1278,6 ± 30,89c
Zielona I	1835,2 ± 14,03d
Zielona II	1372,1 ± 35.51b

Objaśnienia: Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ).

Zgodnie z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy, istotne przyrosty liczby analizowanych bakterii po inkubacji następowały we wszystkich próbach, zarówno z dodatkiem naparów herbat, jak i w próbach kontrolnych (tab. 2). Podobny, wynoszący 1-2 cykle logarytmiczne, wzrost liczby *Bifidobacterium longum*, *Lactiplantibacillus plantarum* i *Lactobacillus acidophilus* po sześciu godzinach inkubacji prób zawierających napary herbat (1 ml 2% naparu i 9 ml płynnego MRS) oraz prób kontrolnych, obserwowali Ankolekar i in. (2011). W niniejszej pracy, w odniesieniu do *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*) oznaczona liczba bakterii w próbach zawierających napary z herbaty była we wszystkich przypadkach istotnie mniejsza niż w próbce kontrolnej.

**Tabela 2.** Liczba bakterii kwasu mlekowego w podłożach z dodatkiem naparów herbat i w próbie kontrolnej

	Liczba drobnoustrojów (log jtk/ml)					
	Pu-erh	Czarna I	Czarna II	Zielona I	Zielona II	Woda
<i>Lactobacillus fermentum</i> ( <i>Limosilactobacillus fermentum</i> ) 0 h	6,56 <sup>a</sup> ± 0,16	6,63 <sup>a</sup> ± 0,07	6,45 <sup>a</sup> ± 0,17	6,53 <sup>a</sup> ± 0,19	6,57 <sup>a</sup> ± 0,13	6,55 <sup>a</sup> ± 0,18
<i>Lactobacillus fermentum</i> ( <i>Limosilactobacillus fermentum</i> ) 5 h	7,76 <sup>a</sup> ± 0,08	7,73 <sup>a</sup> ± 0,09	7,19 <sup>b</sup> ± 0,17	7,34 <sup>b</sup> ± 0,13	7,22 <sup>b</sup> ± 0,19	8,31 <sup>c</sup> ± 0,15
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 0 h	6,18 <sup>a</sup> ± 0,13	6,13 <sup>a</sup> ± 0,21	6,26 <sup>a</sup> ± 0,07	6,24 <sup>a</sup> ± 0,26	6,15 <sup>a</sup> ± 0,17	6,09 <sup>a</sup> ± 0,12
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 6 h	7,17 <sup>a</sup> ± 0,21	7,29 <sup>a</sup> ± 0,06	7,28 <sup>a</sup> ± 0,18	7,05 <sup>a</sup> ± 0,13	7,26 <sup>a</sup> ± 0,13	7,39 <sup>a</sup> ± 0,23
<i>Bifidobacterium bifidum</i> 0 h	5,53 <sup>a</sup> ± 0,14	5,18 <sup>b</sup> ± 0,1	5,47 <sup>a</sup> ± 0,07	5,52 <sup>a</sup> ± 0,1	5,49 <sup>a</sup> ± 0,11	5,46 <sup>a</sup> ± 0,11
<i>Bifidobacterium bifidum</i> 5 h	7,81 <sup>ab</sup> ± 0,07	7,58 <sup>a</sup> ± 0,08	8,11 <sup>b</sup> ± 0,14	8,03 <sup>b</sup> ± 0,14	7,92 <sup>a</sup> ± 0,1	7,65 <sup>a</sup> ± 0,17
<i>Lactococcus lactis</i> 0 h	5,92 <sup>ab</sup> ± 0,08	6,03 <sup>a</sup> ± 0,1	5,87 <sup>ab</sup> ± 0,08	5,76 <sup>b</sup> ± 0,12	5,73 <sup>b</sup> ± 0,09	5,97 <sup>ab</sup> ± 0,08
<i>Lactococcus lactis</i> 6 h	7,97 <sup>a</sup> ± 0,12	7,65 <sup>c</sup> ± 0,14	8,51 <sup>b</sup> ± 0,13	7,98 <sup>a</sup> ± 0,09	8,08 <sup>a</sup> ± 0,11	7,96 <sup>a</sup> ± 0,08
<i>Bifidobacterium</i> sp. 0 h	6,83 <sup>a</sup> ± 0,14	6,74 <sup>a</sup> ± 0,07	6,79 <sup>a</sup> ± 0,16	6,88 <sup>a</sup> ± 0,12	6,85 <sup>a</sup> ± 0,15	6,76 <sup>a</sup> ± 0,1
<i>Bifidobacterium</i> sp. 5 h	8,04 <sup>a</sup> ± 0,13	7,52 <sup>b</sup> ± 0,1	7,60 <sup>bc</sup> ± 0,11	7,87 <sup>ac</sup> ± 0,14	7,66 <sup>bc</sup> ± 0,15	8,07 <sup>a</sup> ± 0,09

Objaśnienia: 0 – liczba bakterii bezpośrednio po inokulacji pożywki; 0 h, 5 h i 6 h – czas inkubacji. Wartości w wierszu oznaczone takimi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ).

W przypadku części prób zawierających herbaty, w porównaniu z próbą kontrolną, stwierdzono istotne, choć niewielkie, wynoszące znacznie poniżej cyklu logarytmicznego różnice w liczbie *Bifidobacterium* sp. W próbach zawierających dodatek herbaty czarnej oraz zielonej II liczebność tych drobnoustrojów była mniejsza niż w próbie kontrolnej. Najśłabszy wpływ hamujący na wzrost wszystkich bakterii wykazywały herbata Pu-erh i zielona I. Dodatek naparów z tych herbat wpłynął na zmniejszenie liczby bakterii, w porównaniu do kontroli jedynie w przypadku *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*). Nie odnotowano też wyraźnego działania stymulującego zastosowanych dodatków. W pojedynczych przypadkach liczebność bakterii po inkubacji z naparem była istotnie większa niż w próbie kontrolnej (*Lactococcus lactis*, podłoże z dodatkiem herbaty czarnej II i *Bifidobacterium bifidum* podłoże z herbatą czarną II i zieloną I), jednak różnice te

także wynosiły poniżej jednego cyklu logarytmicznego. Pomimo różnic w zawartości polifenoli ogółem w zastosowanych naparach, nie zaobserwowano wyraźnego związku pomiędzy wartością tego wskaźnika a wzrostem testowanych mikroorganizmów. Nie zaobserwowano również zależności pomiędzy stopniem fermentacji zastosowanych herbat a ilością mikroorganizmów po czasie ekspozycji. Wpływ składników polifenolowych na wzrost mikroorganizmów jest zależny zarówno od gatunku i szczepu bakterii oraz struktury polifenoli (Makarewicz i in. 2021). Działanie hamujące wzrost drobnoustrojów przez wymienione związki może być m.in. skutkiem oddziaływań polifenoli z białkami, uszkodzenia DNA, hamowania syntezy kwasów nukleinowych, interakcji ze ścianą komórkową oraz hamowania jej syntezy, oddziaływania na przepuszczalność błon cytoplazmatycznych, modulowania aktywności enzymów czy zahamowania metabolizmu energetycznego m.in. poprzez hamowanie aktywności ATPazy (Makarewicz i in. 2021). Napary herbat użytych w niniejszym doświadczeniu mogą różnić się rodzajem związków polifenolowych., bowiem jak zanotowali Zhang i in. (2012) w wodnym ekstrakcie herbaty Pu-erh występuje kwas galusowy, katechyna, epikatechyna, galusan epikatechiny, galusan epigalokatechiny, kemferol i kwercetyna. Charakterystycznymi składnikami herbat zielonych są katechiny, głównie EGCG (galusan epigalokatechiny), ECG (galusan epikatechiny), EGC (epigalokatechyna) i epikatechyna. EGCG stanowi od 50% do 80% wymienionych związków w zielonej herbacie (Khan i in., 2006). W czarnej herbacie około 75% katechin ulega utlenieniu pod działaniem enzymów, ale także dekarboksylacji i polimeryzacji, co prowadzi do powstania teaflawin i tearubigin (Donejko i in. 2013). Na podstawie rezultatów badań dotyczących wpływu ekstraktów z różnych herbat na wzrost *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella sp.*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas fluorescens* Chou i in. (1999) stwierdzili, że aktywność antymikrobiologiczna zmniejszała się wraz ze zwiększającym się stopniem fermentacji herbaty. Natomiast Si i in. (2006), jako najbardziej aktywne mikrobiologicznie składniki zielonej herbaty, wykazali galusan epikatechiny oraz galusan epigalokatechiny.

Niektóre dane literaturowe wskazują na brak hamowania wzrostu LAB przez ekstrakty herbat. Dla przykładu Almajano i in. (2008) w odniesieniu do *Lactobacillus acidophilus* nie odnotowali inhibicji spowodowanej przez napary białej, zielonej, czarnej i czerwonej herbaty (1,5 g/100 ml). Z kolei Ankolekar i in. (2011) nie stwierdzili istotnego wpływu naparów dodawanych do podłoża na wzrost *Bifidobacterium longum*, *Lactiplantibacillus plantarum* i *Lactobacillus acidophilus*. W pracy Chung i in. (1998) zaobserwowano, że ani *Bifidobacterium infantis* ani *Lactobacillus acidophilus* nie były hamowane przez kwas taninowy, galusan propylu i galusan metylu w dawkach do 500 µg/ml. Zaobserwowano także, że dodatek zielonej, czarnej lub herbaty Pu-erh do jogurtu nie wpływa w negatywny sposób na wzrost i przeżywalność charakterystycznych dla tego produktu mikroorganizmów, takich jak *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (Jairi i in. 2009, Najgebauer-Lejko i in. 2011). Najgebauer-Lejko i in. (2011) podają nawet, że dodatek naparów herbaty zielonej lub Pu-erh pozytywnie wpłynął na liczbę *L. delbrueckii ssp.*

*bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* oraz początkową kwasowość jogurtu. Stwierdzono także, że bakterie jogurtowe nie wpływały istotnie na ilość katechiny herbaty w trakcie 48 godzinnej inkubacji (Jaziri i in. 2009). Natomiast Zhao i Shah (2014), dodając ekstrakty herbat do mleka sojowego i prowadząc fermentację tego napoju odnotowali, że dodatek herbaty wpływał korzystnie na wzrost *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz *Lactobacillus paracasei* (*Lacticaseibacillus paracasei*), ale hamował wzrost *Lactobacillus acidophilus* i *Streptococcus thermophilus*. Janiak i in. (2018), dodając frakcję katechin oraz frakcję o wysokich masach cząsteczkowych związków pochodzących z ekstraktu z zielonej herbaty do hodowli bakterii mlekowych, obserwowali różnice we wpływie obu frakcji na poszczególne oceniane szczepy drobnoustrojów. Dodatek frakcji katechin powodował zmniejszenie liczby wykrywanych drobnoustrojów w przypadku *Lactobacillus salivarius* AWH (*Ligilactobacillus salivarius*), *Lactobacillus plantarum* IB (*Lactiplantibacillus plantarum*) i *Lactobacillus casei* LcY (*Lacticaseibacillus casei*), *Bifidobacterium animalis* 25527, *Bifidobacterium breve* KN14, *Bifidobacterium breve* KN20 oraz zwiększenie liczebności *Lactobacillus plantarum* W42 (*Lactiplantibacillus plantarum*), *Lactobacillus bulgaricus* 151, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* Bi30, *Bifidobacterium longum* K11 oraz *Bifidobacterium longum* 1742D. Na wzrost *Streptococcus thermophilus* MK-10 ta frakcja nie wywarła wpływu. Natomiast frakcja o wysokich masach cząsteczkowych powodowała inhibicję wzrostu wszystkich badanych *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus* MK-10 oraz prawie wszystkich użytych w badaniu *Lactobacillus*, z wyjątkiem *L. plantarum* W42 i *L. bulgaricus* 151. Cytowani autorzy stosowali dodatek roztworów frakcji do podłoży wynoszący 10%, stężenie roztworów wynosiło 20 mg/ml.

Li i in. (2022) oceniali możliwość wytwarzania napoju fermentowanego na bazie produktów ubocznych, powstających przy produkcji czarnej herbaty, składających się m.in. z łodyg i innych połamanych części roślin z udziałem szczepu *Lactobacillus plantarum* RLL 68 (*Lactiplantibacillus plantarum*). Substratem był ekstrakt uzyskany z 10 g produktu ubocznego z czarnej herbaty i 2 litrów wrzącej wody, uzyskany w wyniku zaparzenia przez 5 minut, filtracji i dodania 10 g glukozy. Autorzy obserwowali w ciągu pierwszych ośmiu godzin fermentacji wzrost liczebności komórek *L. plantarum* z  $10^5$  do  $10^7$  jtk/ml, jednak pomiędzy 36 a 96 godziną fermentacji zaobserwowano redukcję liczby bakterii do poziomu  $10^1$  jtk/ml. Ponieważ w tym czasie pH napoju uległo obniżeniu z 4,7 do 3,8 autorzy wywnioskowali, że oceniony szczep nadaje się do fermentacji tego substratu. Vodnar i in. (2012) obserwowali korzystny wpływ, zarówno czarnej, jak i zielonej herbaty na wzrost i żywotność *Lactobacillus casei* (*Lacticaseibacillus casei*) w pożywce MRS. Innym przykładem interakcji pomiędzy bakteriami mlekowymi i zieloną herbatą jest wykorzystanie przez Solopovą i in. (2019) zmodyfikowanego genetycznie szczepu *Lactococcus lactis* do produkcji antocyjanów przy użyciu naparów zielonej herbaty jako substratu. Oprócz oczekiwanych związków cyjanidyny i delfinidyny, otrzymano także piranoantocyjanidyny. Gaudreau i in. (2016) uważają natomiast, że ekstrakty z zielonej herbaty mogą poprawiać przeżywalność wrażliwych na obecność tlenu mikroorganizmów w górnych odcinkach

przewodu pokarmowego. Jednak badania Gao i in. (2020) wskazują na większą złożoność wpływu herbaty na bakterie mlekowe obecne w jelitach. Autorzy w doświadczeniu przeprowadzonym z udziałem szczurów stwierdzili, że podawanie im czarnej herbaty wpłynęło na ograniczenie wzrostu bakterii należących do *Lactobacillus*. Prawdopodobnie jednak nie było to spowodowane samymi składnikami herbaty, ale tym, że powodowała ona wzrost całkowitej ilości kwasów żółciowych negatywnie wpływających na żywotność omawianych bakterii. Przedmiotem badań były też interakcje pomiędzy poszczególnymi składnikami ekstraktów herbaty z bakteriami kwasu mlekowego (Bustos i in. 2012, Duda-Chodak 2012, Gwiazdowska i in. 2015, Lee i in. 2006, Tzounis i in. 2008). Stwierdzono m.in., że poszczególne związki polifenolowe mogą stanowić źródło węgla dla mikroorganizmów, ale także wpływać stymulująco na ich wzrost. Przykładowo Tzounis i in. (2008) obserwowali statystycznie istotny wzrost *Bifidobacterium spp.* oraz *Lactobacillus spp.* po inkubacji mikroorganizmów z katechiną (150 mg/L). Dodatek epikatechiny oraz dodatek katechiny w dawce 1000 mg/L nie powodował już jednak tego efektu. Brak wpływu katechiny (250 µg/ml płynnego podłoża) na wzrost *Lactobacillus sp.* i *Bifidobacterium catenulatum* zaobserwowała Duda-Chodak (2012). Natomiast Bustos i in. (2012) wskazali na możliwość negatywnego wpływu związków polifenolowych na adhezję potencjalnie probiotycznych bakterii do komórek jelitowych. W opisywanym badaniu widoczne było zróżnicowane oddziaływanie flawanoli, zależne od rodzaju związku, szczepu bakterii i rodzaju komórek jelitowych. W większości przypadków adhezja bakterii mlekowych była hamowana, ale np. galusan epigalokatechiny zwiększał adhezję *L. acidophilus* do jednego z typów stosowanych w badaniu komórek. Gwiazdowska i in. (2015), dodając (2, 20 i 100 µg/ml) do hodowli *Bifidobacterium adolescentis* i *Bifidobacterium bifidum* pojedyncze związki polifenolowe, w tym: rutynę, kwercetynę, nargininę, hesperydynę oraz wybrane kwasy fenolowe obserwowali, zarówno efekt stymulujący, jak i hamujący wzrost drobnoustrojów. Związki fenolowe mogą być metabolizowane przez bakterie należące do *Lactobacillaceae*, zarówno w celu pozyskania cukrów, jak i w ramach mechanizmów dezaktywujących związki o właściwościach antymikrobiologicznych. Związki fenolowe mogą też zwiększać wydajność wytwarzania ATP. Wśród bakterii należących do wymienionej rodziny istnieje zróżnicowanie genetyczne dotyczące możliwości przekształcania przez nie związków fenolowych (Gaur i Gänzle 2023).

#### 4. Podsumowanie

We wszystkich analizowanych próbach po czasie inkubacji obserwowano zwiększenie liczby drobnoustrojów, w porównaniu do ich poziomu bezpośrednio po inokulacji. Napary herbaty obecne w podłożu MRS, w stężeniach zbliżonych do typowych naparów konsumpcyjnych, w większości przypadków nie wpływały w sposób hamujący ani stymulujący na testowane szczepy *Bifidobacterium bifidum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus acidophilus* oraz *Bifidobacterium sp.* Jedynie w przypadku *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*) obserwowany przyrost liczby bakterii w próbach z dodatkiem naparów był we wszystkich przypadkach istotnie niższy niż w próbie kontrolnej. Nie



zaobserwowano związek pomiędzy stopniem fermentacji herbat i zawartością w nich polifenoli ogółem a wpływem na wzrost wymienionych drobnoustrojów. Uzyskane wyniki wskazują na celowość dalszych badań dotyczących wpływu naparów herbat na wzrost bakterii kwasu mlekowego w produktach spożywczych.

*Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MEiN na działalność statutową.*

## Literatura

1. Ahmed S., Unachukwu U., Stepp J. R., Peters Ch. M., Long Ch., Kennelly E. (2010). Pu-erh tea tasting in Yunnan, China: Correlation of drinkers' perceptions to phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 176-185.
2. Almajano M. P., Carbó R., Jiménez J.A.L., Gordon M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108(1), 55-63.
3. Ankolekar C., Johnson D., da Silva Pinto M., Johnson K., Labbe R., Shetty K. (2011). Inhibitory potential of tea polyphenolics and influence of extraction time against *Helicobacter pylori* and lack of inhibition of beneficial lactic acid bacteria. *Journal of Medicinal Food*, 14(11), 1321-1329.
4. Bond T., Derbyshire E. (2019). Tea compounds and the gut microbiome: Findings from trials and mechanistic studies. *Nutrients*, 11(10), 2364.
5. Bustos I., García-Cayuela T., Hernández-Ledesma B., Peláez C., Requena T., Martínez-Cuesta M.C. (2012). Effect of flavan-3-ols on the adhesion of potential probiotic *Lactobacilli* to intestinal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 9082-9088.
6. Chen M., Zhu Y., Zhang H., Wang J., Liu X., Chen Z., Zheng M., Liu B. (2017). Phenolic compounds and the biological effects of Pu-erh teas with long-term storage. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1715-1728.
7. Chou C. C., Lin L. L., Chung K. T. (1999). Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. *International Journal of Food Microbiology*, 48, 125-130.
8. Chung K.-T., Lu Z., Chou M. W. (1998). Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 36(12), 1053-1060.
9. Dan T., Liu W., Song Y., Xu H., Menghe B., Zhang H., Sun Z. (2015). The evolution and population structure of *Lactobacillus fermentum* from different naturally fermented products as determined by multilocus sequence typing (MLST). *BMC Microbiology*, 15(1), 107.
10. Duda-Chodak A. (2012). The inhibitory effect of polyphenols on human gut microbiota. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 63(5), 497-503.
11. De Carvalho Rodrigues V., Da Silva M. V., Dos Santos A. R., Zieliński A. A. F., Haminiuk C. W. I. (2015). Evaluation of hot and cold extraction of bioactive compounds in teas. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(9), 2038-2045.

12. Donejko M., Niczyporuk M., Galicka E., Przyłipiak A. (2013). Właściwości antynowotworowe galusanu epigallokatechiny zawartego w zielonej herbacie. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 67, 26-34.
13. Gao Y., Xu Y., Yin J. (2020). Black tea benefits short-chain fatty acid producers but inhibits genus *Lactobacillus* in the gut of healthy Sprague-Dawley rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15), 5466-5475.
14. Gaudreau H., Champagne C. P., Remondetto G. E., Gomaa A., Subirade M. (2016). Co-encapsulation of *Lactobacillus helveticus* cells and green tea extract: Influence on cell survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 26, 451-459.
15. Gaur G., Gänzle M. G. (2023). Conversion of (poly)phenolic compounds in food fermentations by lactic acid bacteria: Novel insights into metabolic pathways and functional metabolites. *Current Research in Food Science*, 6, 100448.
16. Gharaei-Fathabad E., Eslamifar M. (2011). Isolation and applications of one strain of *Lactobacillus paraplantarum* from tea leaves (*Camellia sinensis*). *American Journal of Food Technology* 6 (5), 429-434.
17. Goderska K., Rychlik T., Andrzejewska E., Szkaradkiewicz A., Czarnecki Z. (2012). Antagonistyczny wpływ *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 na bakterie patogenne izolowane od ludzi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3 (82), 114-131.
18. Goldstein E. J. C., Tyrrell K. L., Citron D. M. (2015). *Lactobacillus* species: Taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(S2), S98-S107.
19. Gwiazdowska D., Juś K., Jasnowska-Małecka J., Kluczyńska K. (2015). The impact of polyphenols on *Bifidobacterium* growth. *Acta Biochimica Polonica*, 62(4), 895-901.
20. Hamer M. (2007). The beneficial effects of tea on immune function and inflammation: a review of evidence from *in vitro*, animal, and human research. *Nutrition Research*, 27, 373-379.
21. Hao D., Shah N. P. (2014). Effect of tea extract on lactic acid bacterial growth, their cell surface characteristics and isoflavone bioconversion during soymilk fermentation. *Food Research International*, 62, 877-885.
22. Hervert-Hernández D., Goñi I. (2011). Dietary polyphenols and human gut microbiota: A Review. *Food Reviews International*, 27, 154-169.
23. Hove H., Nørgaard H., Brøbech Mortensen P. (1999). Review. Lactic acid bacteria and human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 339-350.
24. Janiak M. A., Amarowicz R., Rostek D. (2018). Influence of catechin fraction and high molecular fraction from green tea extract on *lactobacillus*, *bifidobacterium* and *streptococcus* strains. *Natural Product Communications*, 13(6), 713-716.
25. Jaziri I., Ben Slama M., Mhadhbi H., Urdaci M. C., Hamdi M. (2009). Effect of green and black teas (*Camellia sinensis* L.) on the characteristic microflora of yogurt during fermentation and refrigerated storage. *Food Chemistry*, 112(3), 614-620.

26. Jin Y. H., Hong J. H., Lee J.-H., Yoon H., Pawluk A. M., Yun S. J., Mah J. H. (2021). Lactic acid fermented green tea with *Levilactobacillus brevis* capable of producing  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Fermentation*, 7(3), 110.
27. Keller A., Wallace T. (2021). Tea intake and cardiovascular disease: an umbrella review. *Annals of Medicine*, 53(1), 929-944.
28. Khan N., Afaq F., Saleem M., Ahmad N., Mukhtar H. (2006). Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Cancer Research*, 66(5), 2500-2505.
29. Koirala S., Anal A. K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100013.
30. Koo M. W. L., Cho C. H. (2004). Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *European Journal of Pharmacology*, 500(1-3 SPEC. ISS), 177-185.
31. Kristanti R. A., Hadibarata T., Punbusayakul N. (2014). Beneficial effects of commercial Assam green tea infusion on the microbial growth and oxidative stability of cooked beef. *International Food Research Journal*, 21(4), 1313-1320.
32. Lee H. C., Jenner A. M., Low C. S., Lee Y. K. (2006). Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Research in Microbiology*, 157(9), 876-884.
33. Leeuwendaal N. K., Staton C., O'Toole P. W., Beresford T. P. (2022). Fermented foods, health and gut microbiome. *Nutrients*, 14(7), 1527.
34. Li R., Luo W., Liu Y., Chen C., Chen S., Yang J., Wu P., Lv X., Liu Z., Ni L., Han J. (2022). The investigation on the characteristic metabolites of *Lactobacillus plantarum* RLL68 during fermentation of beverage from by-products of black tea manufacture. *Current Research in Food Science*, 5, 1320-1329.
35. Libudzisz Z. (2002). Probiotics-microbiological and technological aspects. *Mikrobiologiczne i technologiczne aspekty probiotyków. Probiotyki, Warsztaty zorganizowane w ramach projektu Accompanying Measure do projektu Flair-Flow Europe IV, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków, s. 11-22.*
36. Lima W. D. L., Monteiro S. S., Pasquali M. A. (2022). Study of fermentation strategies by *Lactobacillus gasseri* for the production of probiotic food using passion fruit juice combined with green tea as raw material. *Foods*, 11, 1471.
37. Liu W., Wan C., Huang Y., Li M. (2020). Effects of tea consumption on metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Phytotherapy Research*, 34(11), 2857-2866.
38. Makarewicz M., Drożdż I., Tarko T., Duda-Chodak A. (2021). The interactions between polyphenols and microorganisms, especially gut microbiota. *Antioxidants*, 10, 188.
39. Najgebauer-Lejko D., Sady M., Grega T., Walczycka M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(8), 568-574.

40. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. (2010). Probiotyki-historia i mechanizmy działania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (71), 5-19.
41. Pandit A., Anand S., Kalscheur K., Hassan A. (2012). Production of conjugated linoleic acid by lactic acid bacteria in milk without any additional substrate. *International Journal of Dairy Technology*, 65(4), 603-608.
42. Passione E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 86.
43. Perdígón G., Maldonado Galdeano C., Valdez J. C., Medici M. (2002). Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, Suppl 4, S21-S26.
44. Rodríguez H., Curiel J. A., Landete J. M., Rivas de las B., Felipe de F. L., Gómez-Cordovés C., Mancheño J.M., Muñoz R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2-3), 79-90.
45. Saarela M., Lähteenmäki L., Crittenden R., Salminen S., Mattila-Sandholm T. (2002). Gut bacteria and health foods - the European perspective. *International Journal Food Microbiology*, 78(1-2), 99-117.
46. Si W., Gong J., Tsao R., Kalab M., Yang R., Yin Y. (2006). Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract. *Journal of Chromatography A*, 1125, 204-210.
47. Sharangi A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Research International*, 42(5-6), 529-535.
48. Shori A. B. (2022). Application of *Bifidobacterium* spp. in beverages and dairy food products: an overview of survival during refrigerated storage. *Food Science and Technology (Brazil)*, 42, e41520.
49. Silva S. C. B., Grosso C., Vieira E. F., Martins M. L., Silva V. R. O., Tette P. A. S., Delerue-Matos C., Antunes D. J. P., Martins E. M. F. (2022). Mate tea with *Lactobacillus* probiotics: viability, chemical characterization and in vitro resistance to the gastrointestinal tract. *Research, Society and Development*, 11(13), e446111335607.
50. Singleton V. L., Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
51. Solopova A., van Tilburg A. Y., Foito A., Allwood J. W., Stewart D., Kulakauskas S., Kuipers O. P. (2019). Engineering *Lactococcus lactis* for the production of unusual anthocyanins using tea as substrate. *Metabolic Engineering*, 54, 160-169.
52. Toda M., Okubo S., Hiyoshi R., Shimamura T. (1989). The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters in Applied Microbiology*, 8(4), 123-125.
53. Tzounis X., Vulevic J., Kuhnle G. G. C., George T., Leonczak J., Gibson G. R., Kwik-Uribe C., Spencer J. P. E. (2008). Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British Journal of Nutrition*, 99, 782-792.

54. Vodnar D. C., Ranga F., Pop O. L., Socaciu C. (2012). Catechin-rich tea extracts improve the *Lactobacillus casei* growth during lactic fermentation. *Bulletin UASVM Agriculture*, 69(2), 447-453.
55. Vuong Q. V. (2014). Epidemiological evidence linking tea consumption to human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 523-536.
56. Wang D. D., Cassidy A., Ferruzzi M. G., Jacques P., Johnson E., Zhao N., Shams-White M., Karlsen M., Wallace T. C., Chung M. (2020). Tea Flavonoids and risk of cardiovascular and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. *Proceedings of the Nutrition Society*, 79(OCE2), E209.
57. Yang C. S. and Landau J. M. (2000). Effects of tea consumption on nutrition and health. *Journal of Nutrition*, 130 (10), 2409-2412.
58. Yilmaz-Ersan L., Ozcan T., Akpınar-Bayazit A. (2020). Assessment of socio-demographic factors, health status and the knowledge on probiotic dairy products. *Food Science and Human Wellness*, 9(3), 272-279.
59. Zhang Y., Skaar I., Sulyok M., Liu X., Rao M., Taylor J. W. (2016). The microbiome and metabolites in fermented Pu-erh tea as revealed by high-throughput sequencing and quantitative multiplex metabolite analysis. *PLoS ONE*, 11(6), e0157847.
60. Zhang H. M., Wang C. F., Shen S. M., Wang G. L., Liu P., Liu Z. M., Wang Y. Y., Du S. S., Liu Z. L., Deng Z. W. (2012). Antioxidant phenolic compounds from Pu-erh tea. *Molecules*, 17, 14037-14045.
61. Zhao C.-N., Tang G.-Y., Cao S.-Y., Xu X.-Y., Gan R.-Y., Liu Q., Mao Q.-Q., Shang A., Li H.-B. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants*, 8(7), 215.
62. Zhao D., Shah N.P. (2014). Effect of tea extract on lactic acid bacterial growth, their cell surface characteristics and isoflavone bioconversion during soymilk fermentation. *Food Research International*, 62, 877-885.
63. Zielińska D., Kołożyn-Krajewska D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties: Review. *BioMed Research International*, 5063185.

## Effect of various tea infusions on the proliferation of selected lactic acid bacteria

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of tea infusions on the growth of selected lactic acid bacteria. Black (2 kinds), green (2 kinds) and Pu-erh tea infusions were used. The strains tested were: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*). After the incubation time, there was an increase in the count of bacteria in all samples. Only in the case of *L. fermentum* the increase in the count of bacteria in all samples containing infusions was smaller than in the control sample. With regard to *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, the inhibitory or stimulating effect on the growth of microorganisms concerned single infusions. In the case of *Lactobacillus acidophilus*, there was neither significant inhibition nor stimulation of bacterial growth by teas present in MRS liquid media.

## Zastosowanie $\alpha$ -amylazy immobilizowanej na nośniku polimerowym do hydrolizy skrobi w ryżu i płatkach owsianych

Oskar Michalski\*, Anna Konieczna-Molenda

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Chemii*

*\*Autor korespondencyjny: oskar.michalski@urk.edu.pl*

### Streszczenie

Unieruchomienie enzymu na dopasowanym do niego nośniku doświadczalnie dobraną metodą wiązania może prowadzić do uzyskania biokatalizatora o nowych właściwościach. Korzystna immobilizacja enzymu zwiększa jego aktywność katalityczną oraz stabilność w warunkach reakcji. Dodatkowo, zastosowanie immobilizowanego enzymu umożliwia wielokrotne jego użycie, obniżając koszty procesów biotechnologicznych, co z kolei wpływa na polepszenie warunków ekonomicznych i środowiskowych.

W przedstawionej pracy badaniom poddano powszechnie stosowany w przemyśle enzym  $\alpha$ -amylazę, hydrolizującą skrobię. Wykonano reakcje immobilizacji enzymu na nośniku polimerowym na bazie poli(N-winyloformamidu) (PNVF). W celu unieruchomienia  $\alpha$ -amylazy, zastosowano aldehyd glutarowy (GA) jako łącznik pomiędzy nośnikiem a enzymem. Otrzymano heterogeniczny biokatalizator aktywny w reakcji hydrolizy skrobi, który przetestowano podczas hydrolizy produktów skrobiowych: ryżu białego i płatków owsianych. Przeprowadzono kilka cykli reakcji z zastosowaniem tego samego biokatalizatora. Rezultaty reakcji z zastosowaniem immobilizowanej  $\alpha$ -amylazy porównano z hydrolizą katalizowaną enzymem w stanie wolnym. Określono kinetykę reakcji hydrolizy produktów skrobiowych, wyznaczając rząd reakcji, stałe szybkości reakcji ( $k$ ) oraz wydajność reakcji. Stwierdzono, że hydroliza ryżu i płatków owsianych przebiega szybciej przy zastosowaniu enzymu immobilizowanego na nośniku; potwierdzają to zarówno wartości stałych szybkości, jak i wydajność reakcji hydrolizy. Dodatkowo, otrzymany w wyniku immobilizacji biokatalizator był aktywny i stabilny w kolejnych cyklach reakcji hydrolizy.

**Słowa kluczowe:** hydroliza enzymatyczna,  $\alpha$ -amylaza, immobilizacja enzymów, nośniki polimerowe

### 1. Wprowadzenie

Enzymatyczna hydroliza jest obecnie najbardziej obiecującą reakcją rozkładu skrobi, ponieważ jest korzystna dla środowiska ze względu na warunki, w których nie biorą udziału odczynniki chemiczne i rozpuszczalniki, a tym samym zmniejsza się objętość odpadów (Xu i in. 2016).

$\alpha$ -Amylaza (glukanohydrolaza 4- $\alpha$ -D-glukanu, EC 3.2.1.1) to enzym szeroko stosowany w wielu gałęziach przemysłu, w tym w spożywczym, farmaceutycznym, chemicznym oraz w ochronie środowiska, np. przy biokonwersji odpadów stałych (Al-Dhabi i in. 2020).

Katalizuje ona hydrolizę wiązań  $\alpha$ -1,4-glikozydowych w skrobi do oligosacharydów. Posiada ważną funkcję biologiczną w procesie kiełkowania nasion roślin, przekształcając skrobię, niezbędną rezerwę pokarmową, w rozpuszczalne maltodekstryny, które następnie ulegają hydrolizie do maltozy i glukozy (Nazarova i in. 2022). Rozerwanie wiązań w substracie jest losowe i może być pojedyncze lub wielokrotne (gdy kilka fragmentów jest po kolei oddzielanych od cząsteczek skrobi) (Mardani i in. 2018). Jednym z głównych produktów hydrolizy skrobi są maltooligosacharydy, które stosowane są jako substancje powlekające, nadające lepkość, nośniki smaku i niskokaloryczne substancje słodzące. Ponadto, maltoza jest głównym składnikiem syropu maltozowego. Skład oligomerów jest inny dla każdej reakcji, dlatego niezbędne jest kontrolowanie hydrolizy skrobi w celu wytworzenia oligosacharydów o wymaganym stopniu polimeryzacji (Liu i Lien 2016).

W warunkach przemysłowych hydrolizę skrobi przeprowadza się zazwyczaj w reakcjach wsadowych lub w procesie ciągłym, w którym  $\alpha$ -amylazę miesza się z roztworem substratu. Jednakże metoda ta ma pewne wady ekonomiczne, ponieważ zastosowanie enzymu jest jednorazowe i dlatego generuje dodatkowe koszty. Rozpuszczalne w wodzie enzymy trudno oddzielić od reagentów lub produktów reakcji i można je zastosować tylko w jednym cyklu enzymatycznym (Elyasi Far i in. 2020). Kolejnym problemem pojawiającym się podczas stosowania  $\alpha$ -amylazy w obszarach przemysłowych jest jej niska stabilność w środowisku reakcji. Pomimo wielu unikalnych właściwości enzymów w zastosowaniach przemysłowych, poprawy wymaga jednak ich stabilność. Z tego powodu enzymy przemysłowe często immobilizuje się na stałych nośnikach. Dzięki tej technice enzym może reagować w środowiskach o ekstremalnych warunkach temperatury i pH oraz w obecności rozpuszczalników organicznych, charakteryzując się wyższą aktywnością katalityczną, a także obniżonymi kosztami produkcji i możliwością opracowania nowego procesu biotransformacji (Liu i Dong 2020). Immobilizacja zapewnia także takie korzyści jak: efektywny odzysk, łatwe oddzielenie enzymu od mieszaniny reakcyjnej i możliwość ponownego użycia oraz poprawę niektórych cech katalitycznych, takich jak stabilność i specyficzność (Brady i Jordaan 2009, Singh i in. 2013). Jako główne wady immobilizacji enzymów można wymienić dodatkowe koszty związane z produkcją i aktywacją nośnika oraz procesem immobilizacji, a w niektórych przypadkach także utratę bądź zmniejszenie aktywności oraz ograniczenie dyfuzji (Long i in. 2018).

Najbardziej popularne metody immobilizacji enzymów to: adsorpcja, fizyczne oddziaływanie, wiązania kowalencyjne, koordynacyjne i sieciowanie (Jang i in. 2021, Mafakher i in. 2023). Kowalencyjne wiązanie enzymu z nośnikiem jest skutecznym i wykazującym wiele zalet sposobem immobilizacji. Silne wiązanie enzymu z nośnikiem zapobiega oderwaniu enzymu od nośnika, pomimo jego ekspozycji na powierzchnię (Wang i in. 2013). Może jednak powodować obniżenie, a w skrajnym przypadku utratę aktywności katalitycznej, spowodowane blokowaniem dostępu substratu do centrum aktywnego (Ansari i Husain 2012). Z tego powodu w immobilizacji powszechnie stosuje się łącznik między



nośnikiem a enzymem. Takim bardzo popularnym łącznikiem jest aldehyd glutarowy, nietoksyczny, a dodatkowo bakterio-, wiruso- i grzybobójczy (Yushkova i in. 2019).

Istotą prezentowanych badań było otrzymanie heterogenicznych biokatalizatorów w wyniku immobilizacji  $\alpha$ -amylazy na nośniku polimerowym na bazie poli(N-winyloformamid) (PNVF), aktywnych w reakcjach hydrolizy skrobi oraz stabilnych w kilku cyklach reakcji. Otrzymane biokatalizatory przetestowano w reakcjach hydrolizy surowców skrobiowych – płatków owsianych oraz ryżu. Rezultaty reakcji porównano z hydrolizą katalizowaną enzymem w stanie wolnym. Nowością w prezentowanej pracy jest zastosowanie polimerowego nośnika do immobilizacji enzymu oraz otrzymanie biokatalizatorów o wyższej aktywności niż enzym w stanie wolnym.

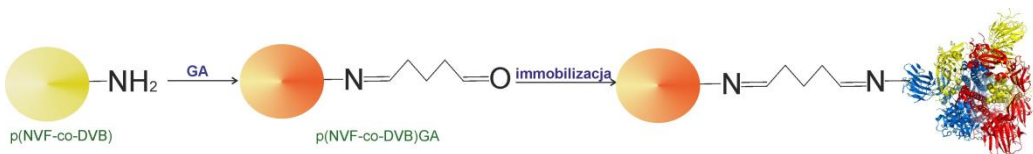
## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiały

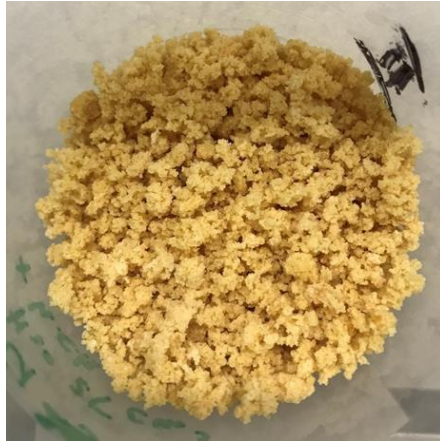
W badaniach zastosowano  $\alpha$ -amylazę (EC 3.2.1.1), SPEZME® PRIME 107-05127-003 (Genencor International, USA), która była otrzymana z genetycznie modyfikowanych organizmów *Geobacillus stearothermophilus*. Według danych producenta enzym wykazywał aktywność ok. 7163 U/g w stałych warunkach pH 5,0-6,5 i w temperaturze 35-50 °C.

Do immobilizacji enzymu zastosowano poliwiniloaminowy (PVA<sub>m</sub>) nośnik, którego synteza polegała na kopolimeryzacji rodnikowej w odwróconej suspensji, monomerem funkcyjnym był N-winyloformamid (NVF), a inicjatorem reakcji dichlorowodorek-2,2'-azo-bis(metylopropionoamidyny) (AIBA). Jako monomer sieciujący zastosowano diwinylobenzen (DVB), jako fazę ciągłą w układzie reakcyjnym użyto olej metylosilikonowy POLSiL 3000 mm<sup>2</sup>/s oraz 1000 mm<sup>2</sup>/s (Konieczna-Molenda i in. w druku, Witek 2008).

Powierzchnia nośnika została aktywowana aldehydem glutarowym (GA) (Tąta i in. 2015), który pełnił rolę łącznika pomiędzy białkiem enzymatycznym a polimerowym nośnikiem (rys. 1).



**Rysunek 1.** Schemat aktywacji nośnika polimerowego p(NVF-co-DVB) aldehydem glutarowym oraz immobilizacji  $\alpha$ -amylazy na nośniku p(NVF-co-DVB)GA. Źródło: opracowanie własne.



**Rysunek 2.** Nośnik polimerowy użyty do immobilizacji enzymów. Źródło: wykonanie własne

Reakcjom hydrolizy enzymatycznej poddano płatki owsiane (Przedsiębiorstwo Zbożowo-Młynarskie „PZZ” w Stoisławiu S.A., Polska) i ryż biały (Kupiec Sp. z o. o. Paprotnia, Polska). Przed hydrolizą substraty skrobiowe zmielono.

## **2.2. Metody badań**

### **2.2.1. Immobilizacja $\alpha$ -amylazy na nośniku polimerowym**

Nośnik polimerowy (rys. 2) umieszczono w 25 cm<sup>3</sup> buforu fosforanowego o pH 7, następnie odmierzone pipetą 1,0 cm<sup>3</sup> roztworu enzymu i całość mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 2 godziny, w temperaturze otoczenia. Następnie mieszaninę odsączono na sączku celulozowym o średnicy porów 5  $\mu$ m (Whatman®). Przesącz z białkiem enzymatycznym, które nie uległo immobilizacji zachowano do dalszych oznaczeń. Otrzymany na sączku produkt przemyto kolejno buforem fosforanowym o pH 7, buforem fosforanowym z NaCl, buforem octanowym o pH 5,5 i buforem TRIS-HCl o pH 7,2. Nośnik z immobilizowanym enzymem umieszczono w 10 cm<sup>3</sup> buforu fosforanowego o pH 7 i przechowywano przez 24 godziny w temperaturze 4 °C.

### **2.2.2. Oznaczanie zawartości białka**

Ilość  $\alpha$ -amylazy unieruchomionej na nośniku obliczono z różnicy całkowitej ilości białka użytego do immobilizacji i białka oznaczonego w przesączu po immobilizacji. Oznaczenie zawartości białka w roztworach przeprowadzono według procedury Lowry’ego (Lowry i in. 1951). Pomiar absorbancji roztworów i próby wzorcowej wykonano przy długości fali 550 nm. Do pomiaru użyto spektrofotometr UV-2101PC Shimadzu (Japonia). Krzywą kalibracyjną wykonano z roztworów tyrozyny (Sigma Aldrich, Polska).

### **2.2.3. Hydroliza enzymatyczna produktów skrobiowych**

Aktywność katalityczną  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej i wolnej oznaczono w reakcjach hydrolizy enzymatycznej surowców skrobiowych. W reakcji porównawczej użyto enzymu w stanie wolnym, w takiej samej ilości jaka została zaimmobilizowana na nośniku.

Odważono po 0,5 g każdego zmielonego surowca skrobiowego, przeniesiono do kolby stożkowej o objętości 100 cm<sup>3</sup>, a następnie dodano 80 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Mieszaninę poddano kleikowaniu w temperaturze 95 °C, przez 15 minut, a po schłodzeniu do temperatury 37 °C, przy stałym mieszaniu roztworu (ok. 100 rpm) został dodany biokatalizator lub wolny enzym. W określonych odstępach czasu, pobierano po 2,0 cm<sup>3</sup> mieszaniny reakcyjnej, dodawano 2,0 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu 3,5-dinitrosalicylowego (DNS), który powodował dezaktywację enzymu, kończąc reakcję hydrolizy skrobi. Następnie do każdej pobranej próbki dodano po 4,0 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Roztwory poddawano analizie spektrofotometrycznej w celu oznaczenia zawartości cukrów redukujących.

Po każdej reakcji enzym immobilizowany na nośniku odsączano na sączku 0,2 µm (Whatman®), przenoszono do kolby okrągłodennej o poj. 100 cm<sup>3</sup> i dodawano 10 cm<sup>3</sup> buforu fosforanowego o pH 7,0. Tak przygotowany enzym wykorzystywano do kolejnych cykli hydrolizy produktów skrobiowych.

#### **2.2.4. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących**

Próbki po hydrolizie ogrzano do temperatury 90 °C, a następnie schłodzono do temperatury ok. 20 °C i poddano analizie spektrofotometrycznej (spektrofotometr UV-Vis 2101PC Shimadzu, Japonia). Pomiar prowadzono przy długości fali 485 nm, stosując kwas 3,5-dinitrosalicylowy (DNS) jako utleniacz. Zawartość cukrów redukujących oznaczono w oparciu o krzywą wzorcową sporządzoną z roztworów maltozy (Miller 1959, Wang 2023).

#### **2.2.5. Analiza statystyczna**

Średnie i odchylenia standardowe wyników oznaczeń zawartości białka w roztworze obliczono z pięciu powtórzeń pomiarów. Do wykonania obliczeń wykorzystano oprogramowanie Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) w wersji 13.3, przeprowadzono wieloczynnikową analizę wariancji. W przypadku stałych szybkości ( $k$ ) oraz wydajności reakcji hydrolizy wartości średnie i odchylenia standardowe wyników oznaczeń obliczono z trzech powtórzeń. W przypadku pozostałych zmiennych oceniono różnice istotne ( $p < 0,05$ ), stosując jednoczynnikową analizę wariancji z testem Duncana.

### **3. Wyniki i dyskusja**

#### **3.1. Zawartość enzymu na powierzchni nośnika**

Różnica między całkowitą ilością enzymu pobraną do immobilizacji a ilością enzymu pozostałą w przesączu po immobilizacji stanowiła ilość enzymu, który został zaimmobilizowany (tab. 1). Na podstawie tej ilości obliczono wydajność reakcji – wynosiła ona 40%.

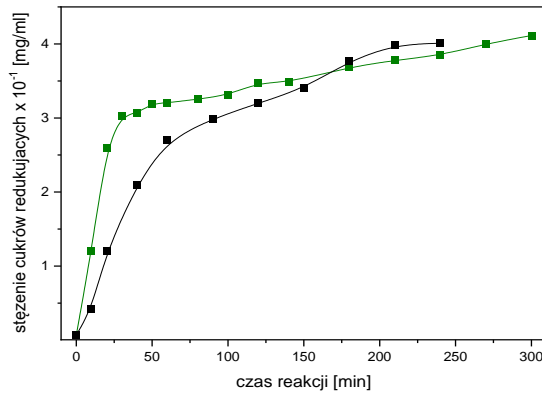
**Tabela 1.** Zawartość enzymu w roztworze, przesączu i na nośniku oraz wydajność immobilizacji

	Ilość enzymu w 1 ml roztworu ( $\mu\text{g}$ )	Ilość enzymu w 1 ml przesączu ( $\mu\text{g}$ )	Ilość enzymu na nośniku ( $\mu\text{g}$ )	Wydajność immobilizacji (%)
$\alpha$ -amylaza	$2895 \pm 33$	$1737 \pm 12$	$1158 \pm 30$	$40 \pm 3$

Biorąc pod uwagę ilość unieruchomionego białka można wnioskować, że wiązanie białka z nośnikiem prawdopodobnie nie było jednopunktowe, lecz wielopunktowe. Potencjalnie każda cząsteczka enzymu mogła być unieruchomiona w kilku miejscach.  $\alpha$ -Amylaza jest dość dużym białkiem, więc można przypuszczać, że związana była z nośnikiem w kilku miejscach.

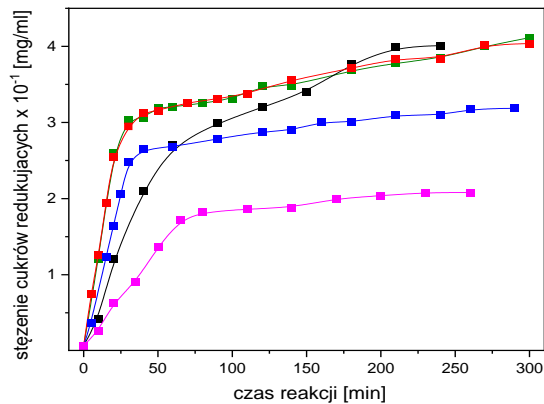
### 3.2. Hydroliza płatków owsianych

Przebieg reakcji hydrolizy płatków owsianych wyrażony zależnością stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji przedstawiono na rysunku 3. Reakcję hydrolizy z  $\alpha$ -amylazą immobilizowaną porównano z reakcją katalizowaną enzymem wolnym. Zachodzenie reakcji podzielono na etapy charakteryzujące się liniową zależnością stężenia cukrów od czasu reakcji. Liniowa zależność stężenia od czasu może sugerować zerowy rząd hydrolizy, czyli w takim przypadku nie zależy ona od stężenia substratu, a tylko od dostępności enzymu. Wyróżniono dwa prostoliniowe etapy reakcji hydrolizy płatków owsianych (rys. 3). W pierwszym etapie, w którym reakcja rozpoczynała się, występował najszybszy przyrost zawartości cukrów redukujących w jednostce czasu. Oznaczało to, że dostęp do substratu był duży oraz że jeszcze nie było powstałych po hydrolizie produktów i reakcja przebiegała dość szybko. Można również zaobserwować różnicę w początkowej szybkości reakcji hydrolizy zachodzącej z udziałem enzymu wolnego i z udziałem enzymu immobilizowanego. Szybciej przebiegała hydroliza płatków owsianych z zastosowaniem  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej. Natomiast w drugim etapie nachylenie linii prostej było mniejsze, co znaczy, że obniżyła się aktywność enzymu, jak i zmniejszyła się ilość dostępnej do rozkładu skrobi.



**Rysunek 3.** Zależność stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji hydrolizy płatków owsianych z zastosowaniem: —  $\alpha$ -amyłazy wolnej; —  $\alpha$ -amyłazy immobilizowanej

Sprawdzono także, w ilu cyklach reakcji hydrolizy płatków owsianych immobilizowana  $\alpha$ -amyłaza będzie wykazywała aktywność. Wyniki oznaczeń przedstawiono na rysunku 4.



**Rysunek 4.** Zależność stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji hydrolizy płatków owsianych z zastosowaniem: —  $\alpha$ -amyłazy wolnej; —  $\alpha$ -amyłazy immobilizowanej – cykl I; —  $\alpha$ -amyłazy immobilizowanej – cykl II; —  $\alpha$ -amyłazy immobilizowanej – cykl III; —  $\alpha$ -amyłazy immobilizowanej – cykl IV

$\alpha$ -Amyłaza immobilizowana na nośniku polimerowym była aktywna w czterech cyklach reakcji hydrolizy płatków owsianych. W tabeli 2 przedstawiono wartości stałych szybkości (k) i wydajności reakcji dla czterech cykli katalizacyjnych.

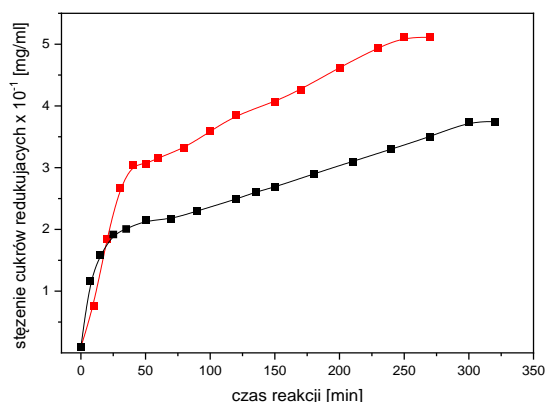
**Tabela 2.** Wartości stałych szybkości i wydajności reakcji hydrolizy w kolejnych czterech cyklach katalitycznych hydrolizy płatków owsianych

$\alpha$ -amylaza	$k_1 \times 10^{-2}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	$k_2 \times 10^{-3}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Wydajność reakcji hydrolizy ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
wolna	$4,5^a \pm 0,3$	$7,7^a \pm 0,4$	$4,0^b \pm 0,2$
immobilizowana – cykl I	$10,3^c \pm 0,9$	$3,9^c \pm 0,1$	$4,1^{bc} \pm 0,2$
immobilizowana – cykl II	$10,0^d \pm 0,9$	$3,9^d \pm 0,2$	$4,0^{bd} \pm 0,1$
immobilizowana – cykl III	$8,1^d \pm 0,1$	$2,5^d \pm 0,2$	$3,2^{bd} \pm 0,1$
immobilizowana – cykl IV	$2,6^d \pm 0,1$	$1,8^d \pm 0,2$	$2,0^{bd} \pm 0,1$

Objaśnienia: Wartości wyrażono jako średnią  $\pm$  SD,  $p < 0,05$ . Różne litery w poszczególnych wierszach w obrębie kolumny wskazują na istotne różnice pomiędzy średnimi ( $p < 0,05$ ). Analiza statystyczna względem: ilości enzymu (ilości enzymu zaimmobilizowanego), ilości substratu.

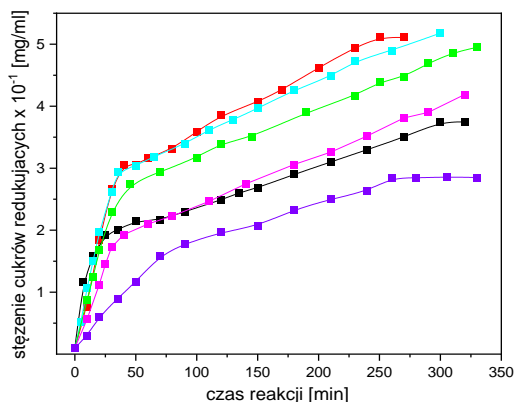
### 3.3. Hydroliza ryżu

Przebieg reakcji hydrolizy ryżu wyrażony zależnością stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji przedstawiono na rysunku 4. Zarówno dla enzymu immobilizowanego, jak i wolnego, reakcja przebiegała w dwóch liniowych etapach.



**Rysunek 5.** Zależność stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji hydrolizy ryżu z zastosowaniem: —  $\alpha$ -amylazy wolnej; —  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej

Reakcja hydrolizy z zastosowaniem enzymu immobilizowanego przebiegała szybciej i z większą wydajnością. Testowano również, w ilu cyklach reakcji hydrolizy ryżu  $\alpha$ -amylaza immobilizowana będzie aktywna – rezultaty tego oznaczenia przedstawiono na rysunku 6.



**Rysunek 6.** Zależność stężenia cukrów redukujących od czasu reakcji hydrolizy ryżu z zastosowaniem: —  $\alpha$ -amylazy wolnej, —  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej – cykl I; —  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej – cykl II; —  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej – cykl III; —  $\alpha$ -amylazy immobilizowanej – cykl IV

$\alpha$ -Amylaza immobilizowana na nośniku polimerowym wykazywała aktywność w pięciu cyklach reakcji hydrolizy ryżu. W tabeli 3 przedstawiono wartości stałych szybkości ( $k$ ) i wydajności reakcji w pięciu cyklach katalitycznych.

**Tabela 3.** Wartości stałych szybkości i wydajności reakcji hydrolizy w kolejnych pięciu cyklach katalitycznych hydrolizy ryżu

$\alpha$ -amylaza	$k_1 \times 10^{-2}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	$k_2 \times 10^{-3}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Wydajność reakcji hydrolizy ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
wolna	$6,9^a \pm 0,8$	$6,5^a \pm 0,1$	$3,8^b \pm 0,3$
immobilizowana – cykl I	$7,8^c \pm 0,5$	$10,2^c \pm 0,2$	$5,1^{bc} \pm 0,2$
immobilizowana – cykl II	$8,2^d \pm 0,3$	$8,8^d \pm 0,1$	$5,2^{bd} \pm 0,1$
immobilizowana – cykl III	$6,0^d \pm 0,4$	$7,8^d \pm 0,1$	$5,0^{bd} \pm 0,3$
immobilizowana – cykl IV	$5,5^d \pm 0,2$	$8,2^d \pm 0,1$	$4,2^{bd} \pm 0,2$
immobilizowana – cykl V	$2,1^d \pm 0,2$	$6,2^d \pm 0,2$	$2,9^{bd} \pm 0,1$

Objaśnienia: Wartości wyrażono jako średnią  $\pm$  SD,  $p < 0,05$ . Różne litery w poszczególnych wierszach w obrębie kolumny wskazują na istotne różnice pomiędzy średnimi ( $p < 0,05$ ). Analiza statystyczna względem: ilości enzymu (ilości enzymu zaimmobilizowanego), ilości substratu.

#### 4. Wnioski

- Otrzymany heterogeniczny biokatalizator wykazywał wysoką aktywność w reakcjach hydrolizy produktów skrobiowych: płatków owsianych i ryżu białego.
- Wyznaczono stałe szybkości ( $k$ ) oraz wydajność reakcji hydrolizy. Na podstawie ich wartości stwierdzono, że w pierwszych cyklach reakcji biokatalizator miał wyższą aktywność niż nieimmobilizowana  $\alpha$ -amylaza.

3. Biokatalizator osadzony na nośniku udało się wydzielić z medium reakcyjnego i zastosować ponownie do hydrolizy.
4. Immobilizowana  $\alpha$ -amylaza była aktywna w czterech cyklach hydrolizy płatków owsianych i w pięciu cyklach hydrolizy ryżu białego, co świadczy o dużej stabilności biokatalizatora.
5. Unieruchomiona na nośniku  $\alpha$ -amylaza była lepszym katalizatorem reakcji hydrolizy skrobi zawartej w ryżu niż tej zawartej w płatkach owsianych.
6. Otrzymany biokatalizator enzymatyczny może być zastosowany w procesach technologicznych w celu obniżenia kosztów hydrolizy skrobi.

### Literatura

1. Al-Dhabi N. A., Esmail G. A., Ghilan A. K. M., Arasu M. V., Duraipandiyan V., Karupiah P. (2020). Isolation and purification of starch hydrolyzing amylase from *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-46 obtained from the Jazan region of Saudi Arabia with industrial applications. *Journal of King Saud University-Science*, 32, 1226-1232.
2. Ansari S. A., Husain Q. (2012). Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: A review. *Biotechnology Advances*, 30, 512-523.
3. Brady D., Jordaan J. (2009). Advances in enzyme immobilization. *Biotechnology Letters*, 31, 1639-1650.
4. Elyasi Far B., Ahmadi Y., Yari Khosroushahi A., Dilmaghani A. (2020). Microbial alpha-amylase production: Progress, challenges and perspectives. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(3), 350-358.
5. Jang S. A., Park J. H., Lim H. J., Oh J. Y., Ki H. B., Lee K. J., Song J. K., Kim D. M. (2021). Bio-specific immobilization of enzymes on electrospun PHB nanofibers. *Enzyme and Microbial Technology*, 145, Article 109749.
6. Konieczna-Molenda A., Bakierska M., Duda-Chodak A. Functionalization of poly-N-vinylformamide (PNVF) in terms of its use as a carrier for immobilization of  $\alpha$ -amylase. *Materials*, w druku.
7. Long J., Zhao X., Liang F., Liu N., Sun Y., Xi Y. (2018). Optimization of fermentation conditions for an *Escherichia coli* strain engineered using the response surface method to produce a novel therapeutic DNA vaccine for rheumatoid arthritis. *Journal of Biological Engineering*, 12, 22.
8. Liu D. M., Dong C. (2020). Recent advances in nano-carrier immobilized enzymes and their applications. *Process Biochemistry*, 92, 464-475.
9. Liu Y. K., Lien P. M. (2016). Bioethanol production from potato starch by a novel vertical mass-flow type bioreactor with a co-cultured-cell strategy. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 62, 162-168.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.



11. Mafakher L., Ahmadi Y., Fard J. K., Yazdansetad S., Gomari S. R., Babak Far B. E. (2023). Alpha-amylase immobilization: methods and challenges. *Pharmaceutical Sciences*, 29(2), 144-155.
12. Mardani T., Khiabani M. S., Mokarram R. R., Hamishehkar H. (2018). Immobilization of  $\alpha$ -amylase on chitosan-montmorillonite nanocomposite beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 354-360.
13. Miller G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
14. Nazarova E. A., Yushkova E. D., Ivanets A. I., Prozorovich V. G., Krivoshepkina E. F. (2022).  $\alpha$ -Amylase immobilization on ceramic membranes for starch hydrolysis. *Starch–Stärke*, 74, 2100017.
15. Singh R. K., Tiwari M. K., Singh R., Lee J. K. (2013). From protein engineering to immobilization: promising strategies for the upgrade of industrial enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 1232-1277.
16. Tała A., Sokołowska K., Świder J., Konieczna-Molenda A., Proniewicz E., Witek E. (2015). Study of cellulolytic enzyme immobilization on copolymers of N-vinylformamide. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 149, 494-504.
17. Wang B., Cheng F., Lu Y., Ge W., Zhang M., Yue B. (2013). Chitosan activated with genipin: A nontoxic natural carrier for tannase immobilization and its application in enhancing biological activities of tea extract. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 97, 137-143.
18. Wang N. S. (2023). Glucose assay by dinitrosalicylic colorimetric method. <http://www.eng.umd.edu/~nsw/ench485/lab4a.htm> (dostęp 14.09.2023).
19. Witek E. (2008). Crosslinking copolymerization of N-vinylformamide in inverse suspension. *Polimery*, 53, 477-480.
20. Xu Q. S., Yan Y. S., Feng J. X. (2016). Efficient hydrolysis of raw starch and ethanol fermentation: a novel raw starch-digesting glucoamylase from *Penicillium oxalicum*. *Biotechnology for Biofuels*, 9, 216.
21. Yushkova E. D., Nazarova E. A., Matyuhina A. V., Noskova A. O., Shavronskaya D. O., Vinogradov V. V., Skvortsova N. N., Krivoshepkina E. F. (2019). Application of immobilized enzymes in food industry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 11553-11567.

## Application of $\alpha$ -amylase immobilized on a polymer support for the hydrolysis of starch in rice and oat flakes

### Abstract

Immobilizing the enzyme on a suitable carrier using an experimentally selected binding method can lead to obtaining a biocatalyst with new properties. Favorable immobilization of the enzyme increases its catalytic activity and stability under reaction conditions. Additionally, the use of an immobilized enzyme enables its repeated use, reducing the costs of biotechnological processes, which in turn improves economic and environmental conditions.

In the presented work, the starch hydrolyzing enzyme  $\alpha$ -amylase, commonly used in industry, was tested. Enzyme immobilization reactions were performed on a polymer carrier based on poly(N-vinylformamide) (PNVF). In order to immobilize  $\alpha$ -amylase, glutaraldehyde (GA) was used as a link between the carrier and the enzyme. A heterogeneous biocatalyst active in the starch hydrolysis reaction was obtained and tested during the hydrolysis of starch products: white rice and oat flakes. Several reaction cycles were performed using the same biocatalyst. The results of the reaction using immobilized  $\alpha$ -amylase were compared with hydrolysis in the free enzyme. The reaction kinetics of the hydrolysis of starch products was determined, determining the reaction order, reaction rate constants ( $k$ ) and reaction efficiency. It was found that the hydrolysis of rice and oat flakes is faster when using the enzyme immobilized on a support, which is confirmed by both the values of the rate constants and the efficiency of the hydrolysis reaction. Additionally, the biocatalyst obtained as a result of immobilization was active and stable in several hydrolysis reaction cycles.

## **Skład kwasów tłuszczowych oraz wybrane wskaźniki oceny jakości lipidów w jogurtach naturalnych oraz wzbogaconych**

Beata Paszczyk\*, Joanna Klepacka, Magdalena Polak-Śliwińska, Elżbieta Tońska

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności,*

*Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności,*

*\*Autor korespondencyjny: paszczyk@uwm.edu.pl*

### **Streszczenie**

Celem badań było określenie składu kwasów tłuszczowych, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz wskaźników oceny jakości lipidów w dostępnych na polskim rynku jogurtach naturalnych oraz jogurtach wzbogaconych. Materiał do badań stanowiły jogurty wyprodukowane z mleka krowiego. Analizie poddano jogurty naturalne (10 próbek) oraz jogurty wzbogacone (12 próbek). Oznaczenie składu kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z objętych badaniem jogurtów przeprowadzono metodą GC-FID. Uzyskane w badaniach wyniki wskazują, że jogurty różnych kategorii, tj. naturalne czy wzbogacone charakteryzują się różnymi zawartościami kwasów tłuszczowych oraz różnymi wartościami wskaźników oceny jakości lipidów. W badanych jogurtach wzbogaconych stwierdzono istotnie wyższą sumaryczną zawartość kwasów PUFA, istotnie wyższą zawartość kwasów z rodziny *n-3* i *n-6* oraz istotnie niższą zawartość kwasów SFA w porównaniu z badanymi jogurtami naturalnymi. Zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) była istotnie wyższa w jogurtach naturalnych. Jogurty z dodatkiem owoców, musli i ziaren roślin oleistych oraz owoców, zbóż i ziaren roślin oleistych charakteryzowały się istotnie wyższym poziomem pożądaných kwasów tłuszczowych (DFA) oraz istotnie niższymi zawartościami niepożądanych kwasów tłuszczowych (OFA) w porównaniu z jogurtami naturalnymi i jogurtami z dodatkiem owoców i ziaren zbóż. Obliczone na podstawie oznaczonego składu kwasów tłuszczowych wskaźniki oceny jakości lipidów w jogurtach naturalnych i wzbogaconych były zróżnicowane. Badane jogurty z dodatkiem owoców, musli i ziaren roślin oleistych (JW. 1) oraz owoców, ziaren zbóż i ziaren roślin oleistych charakteryzowały się istotnie niższymi wartościami wskaźników aterogenności (AI) i trombogenności (TI) oraz istotnie wyższymi wartościami wskaźnika H/H (stosunek hipocholesterolemiczny do hipercholesterolemicznego) w porównaniu z jogurtami naturalnymi i jogurtami z dodatkiem owoców i zbóż, co wskazuje na wyższą jakość prozdrowotną tych jogurtów wzbogaconych.

**Słowa kluczowe:** jogurty naturalne, jogurty wzbogacone, kwasy tłuszczowe, CLA, wskaźniki oceny jakości lipidów

### **1. Wstęp**

Mleko i jego przetwory pełnią ważną rolę w żywieniu człowieka. Fermentowane napoje mleczne to produkty o dość wysokiej wartości odżywczej i zdrowotnej (Mojka 2014, Wajs

i Stobiecka 2020, Żelazna i Popielarska 2003). Związane to jest z ich składem chemicznym, a także formą składników, które łatwo ułatwiają trawieniu, wchłanianiu oraz przyswajaniu. Produkty mleczarskie są znakomitym źródłem pełnowartościowego białka, tłuszczu mlekowego, wapnia, potasu, fosforu i wielu innych istotnych składników odżywczych. Obecność żywych kultur bakterii starterowych w jogurtach jest jednym z czynników wpływających na właściwości terapeutyczne, profilaktyczne i dietetyczne jogurtów. W skład najczęściej stosowanych w procesie produkcji jogurtów szczepionek czystych kultur wchodzi *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, które muszą pozostać żywe, aktywne i liczne (min.  $10^7$  jtk/g) do ostatniego dnia przydatności do spożycia (Kudełka 2005, Kycia i Krysiński 2014).

Głównym składnikiem energetycznym mleka i produktów mleczarskich jest tłuszcz. Pod względem jakościowym i ilościowym tłuszcz mlekowy jest najbardziej zróżnicowanym tłuszczem jadalnym. Zidentyfikowano w nim ponad 500 różnych kwasów tłuszczowych (Reklewska i Bernatowicz 2002). O złożonej budowie tłuszczu mlekowego świadczy m.in. zawartość krótko-, średnio- i długołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych, jednonienasyconych kwasów tłuszczowych o konfiguracji *cis* lub *trans* czy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (Cichosz i Czeczot 2015, Zmarlicki 2009). Tłuszcz mlekowy składa się w ponad 60% z nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA). Większość z tych kwasów (45-50%) to kwasy długołańcuchowe. Są one głównymi składnikami budowy lipidów, fosfolipidów, glikoprotein i lipoprotein wszystkich organów w ludzkim organizmie (Król i Brodziak, 2012). SFA spożywane w większych ilościach podnoszą poziom cholesterolu LDL we krwi i zwiększają jej krzepliwość, przyczyniając się do powstawania miażdżycy i niedokrwiennej choroby serca (Hunter i in. 2010). Jednonienasycone kwasy tłuszczowe (MUFA) oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) w tłuszczu mlekowym stanowią największą grupę aktywnych biologicznie składników. W tłuszczu mlekowym MUFA stanowią około 35% wszystkich kwasów tłuszczowych. W grupie tej dominujący jest kwas oleinowy (*cis*9 C18:1). Badania wykazują jego prozdrowotny wpływ tego kwasu na zdrowie człowieka poprzez obniżanie poziomu cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i triglicerydów we krwi (Król i Brodziak, 2012). Kwasy PUFA w tłuszczu mlekowym stanowią ok. 5%. Wśród polienowych kwasów tłuszczowych wyróżnia się dwie rodziny, *n-6* i *n-3*, pełniące ważne, ale zróżnicowane role w organizmie człowieka (Reklewska i Bernatowicz 2002). Według zaleceń prawidłowego żywienia ważna jest wzajemna proporcja kwasów z rodziny *n-6* do *n-3* w diecie, która powinna wynosić (4-5):1, bez przekraczania wartości 10:1. Nadmierna dysproporcja pomiędzy kwasami z rodziny *n-6* i *n-3* w diecie może zakłócić równowagę i prowadzić do różnych stanów patologicznych (Gomez-Candela i in. 2011). Ważnym, z żywieniowego punktu widzenia, jest obecny w grupie polienowych kwasów tłuszczowych kwas linolowy o sprzężonym układzie podwójnych wiązań, kwas *cis*9*trans*11 C18:2 (CLA), któremu przypisuje się, m.in. właściwości przeciwutleniające, antykancerogenne, antyaterogenne i antymutagenne (Białek i Tokarz 2009, Cichosz 2007, Przybojewska i Rafalski 2003, Santin Junior i in. 2019). Charakterystyczną cechą tłuszczu mlekowego jest wysoka

zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ok. 10% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych). Kwasy te wykazują korzystny wpływ na zdrowie (Kuczyńska i in. 2011).

Jogurty charakteryzują się lekko kwaśnym smakiem oraz przyjemnym zapachem. Aby poprawić walory smakowe tych produktów, zaspokoić gusta konsumentów, zachowując jednocześnie wysoką jakość i bezpieczeństwo wyrobów, producenci coraz częściej stosują substancje dodatkowe do żywności. Producenci bardzo często wzbogacają jogurty poprzez dosładzanie, dodawanie owoców, soków owocowych, bakalii, aromatów, musli czy ziaren zbóż. Pozwala to na wdrożenie nowych technologii produkcji, rozszerzenie oferty handlowej, jak również zwiększenie konkurencyjności na rynku. Konsumenty coraz częściej zwracają uwagę na zdrowe i prawidłowe odżywianie oraz interesują się nowościami na rynku produktów spożywczych. Oczekują od żywności nie tylko dobrego smaku i wyglądu, ale przede wszystkim wysokiej wartości odżywczej i bezpieczeństwa zdrowotnego. Badania ankietowe przeprowadzone przez Sajdakowską i Grasicwic (2016) wskazują, że głównymi czynnikami branymi pod uwagę przez konsumentów przy wyborze jogurtów są: smak, informacja o terminie przydatności do spożycia, konsystencja, zapach, obecność kawałków owoców, marka, cena, kraj pochodzenia oraz korzystne działanie na zdrowie.

Biorąc pod uwagę fakt, że profil kwasów tłuszczowych produktów mleczarskich jest ważnym czynnikiem wpływającym na ich wartość odżywczą, celem badań było określenie składu kwasów tłuszczowych, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości kwasu *cis9 trans11 C18:2 (CLA)* oraz wskaźników oceny jakości lipidów w dostępnych na polskim rynku jogurtach naturalnych oraz wzbogaconych.

## 2. Materiał i metodyka

Materiał do badań stanowiły jogurty wyprodukowane z mleka krowiego. Analizie poddano jogurty naturalne (10 próbek) oraz jogurty wzbogacone (12 próbek). Objęte badaniem jogurty wzbogacone zostały podzielone na 3 grupy (JW. 1, JW. 2 oraz JW. 3). Opis grup jogurtów wzbogaconych podany został w tabeli 1. Badane jogurty pochodziły od różnych producentów, zakupione zostały w 2022 roku, w sklepach na terenie Olsztyna.

**Tabela 1.** Opis objętych badaniem jogurtów wzbogaconych

Produkt	Zastosowane dodatki
JW. 1 (n=4)	owoce, musli, ziarna roślin oleistych
JW. 3 (n=4)	owoce, zboża
JW. 2 (n=4)	owoce, zboża, ziarna roślin oleistych

Objaśnienia: JW – jogurt wzbogacony, n – liczba próbek

Poziom tłuszczu w jogurtach oznaczono za pomocą metody Folcha (Krełowska-Kułas 1993). Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowano wg metody IDF, stosując metanolowy roztwór KOH (IDF 182:2002). Rozdział oraz ilościowe oznaczenie kwasów

tłuszczowych wykonano metodą chromatografii gazowej, z użyciem chromatografu gazowego HP 6890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Oznaczenia przeprowadzono stosując kolumnę kapilarną (producent Chrompack) o długości 100 m, średnicy 0,25 mm, grubości filmu 0,20  $\mu\text{m}$  z fazą stacjonarną CP Sil 88. Zastosowano następujące warunki rozdzielania: temperatura początkowa kolumny 60 °C (1 min) do 180 °C, przyrost temperatury  $\Delta t = 5$  °C/min., temperatura detektora i dozownika odpowiednio 250 °C i 225 °C, gaz nośny hel, przepływ 1,5  $\text{cm}^3/\text{min}$ , split: 50:1. Identyfikację pików kwasów tłuszczowych prowadzono przez porównanie uzyskanych wyników z czasami retencji estrów metylowych kwasów tłuszczowych referencyjnego tłuszczu mlecznego (CRM 164), wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Sigma i Supelco oraz na podstawie danych literaturowych. Udziały procentowe oznaczonych kwasów tłuszczowych obliczano na podstawie integracji powierzchni pików dokonanych przez system komputerowy zestawu chromatograficznego i wyrażano jako procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w stosunku do ogólnej ilości kwasów tłuszczowych (% masowy).

W pracy przedstawiono zawartości wszystkich oznaczonych kwasów tłuszczowych, sumaryczną zawartość wybranych grup kwasów tłuszczowych: krótkołańcuchowych (SCFA), nasyconych (SFA), jednonienasyconych (MUFA), wielonienasyconych (PUFA), kwasów z rodziny  $n-3$  i  $n-6$  oraz podano stosunek kwasów  $n-6/n-3$ , pożądaných hipocholesterolemicznie kwasów tłuszczowych (DFA) do niepożądanych hipercholesterolemicznie kwasów tłuszczowych (OFA). Na podstawie równań podanych przez Ulbricht i Southgate (1991) oraz Osmani i in. (2011) wyliczono wskaźniki: aterogenny (AI) i trombogenny (TI) (równania 1 i 2). Wykorzystując równanie podane przez Ivanovą i Hadzhinikolovą (2015) obliczono proporcję zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych o działaniu hipocholesterolemicznym (H) i hipercholesterolemicznym (H) (wskaźnik H/H) (równanie 3).

$$\text{AI} = (\text{C12:0} + (4 \times \text{C14:0}) + \text{C16:0}) / (\Sigma n-3 \text{ PUFA} + \Sigma n-6 \text{ PUFA} + \Sigma \text{ MUFA}) \quad (1)$$

$$\text{TI} = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / ((0,5 \times \text{C18:1}) + (0,5 \times \text{inne MUFA}) + (0,5 \times \Sigma n-6 \text{ PUFA}) + (3 \times \Sigma n-3 \text{ PUFA}) + \Sigma n-3 \text{ PUFA} / \Sigma n-6 \text{ PUFA}) \quad (2)$$

$$\text{H/H} = (\text{C18:1n-9} + \text{C18:2n-6} + \text{C18:3n-3}) / (\text{C12:0} + \text{C14:0} + \text{C16:0}) \quad (3)$$

Zebraane wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica wersja 13.3. Istotność różnic pomiędzy średnimi określono testem Duncana, przy  $p \leq 0,05$ .

### 3. Wyniki i dyskusja

Ogólny skład kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z objętych badaniem jogurtów naturalnych oraz wzbogaconych przedstawiono w tabeli 2. W tabeli 3 podane zostały zawartości wybranych grup kwasów tłuszczowych oraz obliczone wskaźniki oceny jakości lipidów. Przeprowadzone badania wykazały, że w tłuszczu wydzielonym ze wszystkich objętych badaniem jogurtów, w największej ilości występowały nasycone kwasy tłuszczowe (SFA). Sumaryczna zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w tłuszczu wydzielonym z

jogurtów naturalnych wynosiła 58,99% ogólnego składu kwasów tłuszczowych. Zbliżoną zawartość SFA stwierdzono w próbkach jogurtów wzbogaconych JW. 2 (58,18%). W pozostałych próbkach jogurtów wzbogaconych zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych była istotnie niższa (tab. 3). W tej grupie kwasów tłuszczowych, zarówno w jogurtach naturalnych, jak i wzbogaconych, w największej ilości występowały: kwas palmitynowy (C16:0), mirystynowy (C14:0) oraz stearynowy (C18:0) (tab. 2). W tłuszczu wydzielonym z objętych badaniem jogurtów naturalnych średnia zawartość monoenurowych kwasów tłuszczowych (MUFA) wynosiła 26,95% ogólnego składu kwasów tłuszczowych. W próbkach jogurtów wzbogaconych JW. 1 i JW. 3 monoenurowe kwasy tłuszczowe były na zbliżonych poziomach. Istotnie niższą zawartością tej grupy kwasów tłuszczowych charakteryzował się tłuszcz wydzielony z jogurtów wzbogaconych JW. 2 (tab. 3). We wszystkich objętych badaniem jogurtach monoenurowe kwasy tłuszczowe reprezentowane były głównie przez kwas oleinowy (*cis*9 C18:1). Udział tego kwasu w tłuszczu wydzielonym ze wszystkich badanych jogurtów wynosił powyżej 19% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych (tab. 2). Przeprowadzone badania wykazały, że średni udział polienowych kwasów tłuszczowych (PUFA) w tłuszczu wydzielonym z jogurtów naturalnych wynosił 3,34% kwasów tłuszczowych ogółem i był istotnie niższy niż w tłuszczu wydzielonym z jogurtów wzbogaconych. W jogurtach wzbogaconych średnia zawartość PUFA kształtowała się w przedziale od 5,28% (JW. 2) do 11,11% kwasów tłuszczowych ogółem (JW. 3) (tab. 3). Średnia zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) w tłuszczu wydzielonym z jogurtów naturalnych wynosiła 8,99% ogólnego składu kwasów tłuszczowych. Średnia zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w tłuszczu wydzielonym z jogurtów wzbogaconych JW. 2 była na zbliżonym poziomie. W pozostałych badanych jogurtach wzbogaconych zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych była istotnie niższa (tab. 3).

W pracy zwrócono szczególną uwagę na zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis*9 *trans*11 C18:2 (CLA). Kwas ten posiada wiele prozdrowotnych właściwości, jest dominujący w grupie sprzężonych dienów tłuszczu mlekowego, stanowi od 72% do ponad 90% wszystkich izomerów CLA w tłuszczu przeżuwaczy (Chin i in. 1992, Gutiérrez Alvarez 2016). Na zawartość tego kwasu w tłuszczu mlekowym wpływa wiele czynników, takich jak żywienie zwierząt, rasa, wiek czy okres laktacji (Frelich i in. 2012, Hanuš i in. 2016, Kelsay i in. 2003, Zunong i in. 2008). Na zawartość tego kwasu w fermentowanych produktach mleczarskich, poza jakością mleka, mogą dodatkowo wpływać czynniki stosowane w procesie technologicznym (tj. obróbka cieplna mleka, stosowane kultury starterowe, stosowane dodatki, okres dojrzewania czy temperatura przechowywania) (Akalina i in. 2007, Domagała i in. 2009, Sieber i in. 2004).

**Tabela 2.** Poziom poszczególnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu jogurtów (% kwasów tłuszczowych ogółem)

Kwas tłuszczowy	Jogurty naturalne (n = 10) $X_{\bar{s}r} \pm SD$	Jogurty wzbogacone		
		JW. 1 (n = 4) $X_{\bar{s}r} \pm SD$	JW. 2 (n = 4) $X_{\bar{s}r} \pm SD$	JW. 3 (n = 4) $X_{\bar{s}r} \pm SD$
C4:0	2,53 ± 0,34	2,49 ± 0,09	2,63 ± 0,02	2,63 ± 0,02
C6:0	2,00 ± 0,19	1,84 ± 0,01	1,93 ± 0,01	1,93 ± 0,01
C8:0	1,31 ± 0,10	1,55 ± 0,28	1,26 ± 0,01	1,08 ± 0,02
C10:0	3,15 ± 0,24	1,88 ± 0,69	3,03 ± 0,01	2,57 ± 0,03
C10:1	0,30 ± 0,02	0,22 ± 0,04	0,29 ± 0,01	0,25 ± 0,00
C12:0	3,65 ± 0,25	2,70 ± 0,41	3,55 ± 0,02	2,99 ± 0,00
C12:1	0,10 ± 0,04	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01
C13:0 <i>iso</i>	0,09 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,00
C13:0	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,09 ± 0,01
C14:0 <i>iso</i>	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,09 ± 0,01
C14:0	11,23 ± 0,33	10,44 ± 0,02	11,44 ± 0,02	9,73 ± 0,02
C15:0 <i>iso</i>	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,01
C15:0 <i>aiso</i>	0,51 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01
C14:1	0,98 ± 0,07	0,93 ± 0,01	0,88 ± 0,02	0,81 ± 0,02
C15:0	1,36 ± 0,13	1,12 ± 0,01	1,17 ± 0,01	1,03 ± 0,01
C16:0 <i>iso</i>	0,29 ± 0,02	0,27 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,29 ± 0,06
C16:0	30,48 ± 0,48	28,32 ± 0,06	30,29 ± 0,03	27,98 ± 0,13
C17:0 <i>iso</i>	0,34 ± 0,07	0,35 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,33 ± 0,01
C17:0 <i>aiso</i>	0,25 ± 0,05	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01
C16:1	1,80 ± 0,15	1,75 ± 0,04	1,46 ± 0,19	1,47 ± 0,16
C17:0	0,66 ± 0,19	0,67 ± 0,01	0,78 ± 0,10	0,64 ± 0,13
C17:1	0,29 ± 0,14	0,22 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,22 ± 0,01
C18:0	9,30 ± 0,62	9,29 ± 0,05	8,93 ± 0,03	8,82 ± 0,02
<i>trans</i> 6 - 9 C18:1	0,39 ± 0,08	0,45 ± 0,02	0,39 ± 0,01	0,40 ± 0,01
<i>trans</i> 10 + 11 C18:1	1,59 ± 0,19	1,25 ± 0,01	1,14 ± 0,01	1,21 ± 0,01
<i>trans</i> 12 C18:1	0,33 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,27 ± 0,01
<i>cis</i> 9 C18:1	19,27 ± 0,73	20,68 ± 0,03	19,90 ± 0,01	20,71 ± 0,12
<i>cis</i> 11 C18:1	0,78 ± 0,04	0,80 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,76 ± 0,02
<i>cis</i> 12 C18:1	0,31 ± 0,04	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,10	0,27 ± 0,01
<i>cis</i> 13 C18:1	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,09	0,09 ± 0,01
<i>trans</i> 16 C18:1	0,32 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,26 ± 0,01
C19:0	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,02



Tabela 2. Cd.

Kwas tłuszczowy	Jogurty naturalne (n = 10) X <sub>sr</sub> ± SD	Jogurty wzbogacone		
		JW. 1 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD	JW. 2 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD	JW. 3 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD
<i>cis9trans13</i> C18:2	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,15 ± 0,02
<i>cis9trans12</i> C18:2	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,08 ± 0,01
<i>trans9cis12</i> C18:2	0,10 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,01
<i>trans11cis15</i> C18:2	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,01
<i>cis9cis12</i> C18:2	1,90 ± 0,13	3,14 ± 0,05	3,79 ± 0,08	9,84 ± 0,06
C20:0	0,15 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,03
C20:1	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,01
<i>cis9cis12cis15</i> C18:3	0,38 ± 0,05	3,51 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,43 ± 0,01
<i>cis9trans11</i> C18:2 (CLA)	0,54 ± 0,02	0,44 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,43 ± 0,11

Tabela 3. Średnia zawartość grup kwasów tłuszczowych oraz wskaźniki oceny jakości lipidów w jogurtach naturalnych oraz jogurtach wzbogaconych

Kwasy tłuszczowe	Jogurty naturalne (n = 10) X <sub>sr</sub> ± SD	Jogurty wzbogacone		
		JW. 1 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD	JW. 2 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD	JW. 3 (n = 4) X <sub>sr</sub> ± SD
Σ SCFA	8,99 <sup>a</sup> ± 0,81	7,76 <sup>b</sup> ± 0,31	8,85 <sup>a</sup> ± 0,04	7,55 <sup>b</sup> ± 0,09
Σ SFA	58,99 <sup>a</sup> ± 0,40	54,59 <sup>c</sup> ± 0,34	58,18 <sup>b</sup> ± 0,18	53,18 <sup>d</sup> ± 0,16
Σ MUFA	26,95 <sup>a</sup> ± 1,40	27,45 <sup>a</sup> ± 0,06	24,93 <sup>b</sup> ± 0,03	26,82 <sup>a</sup> ± 0,25
Σ PUFA	3,34 <sup>d</sup> ± 0,10	7,57 <sup>b</sup> ± 0,05	5,28 <sup>c</sup> ± 0,02	11,11 <sup>a</sup> ± 0,03
<i>n-3</i>	0,38 <sup>d</sup> ± 0,05	3,51 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>b</sup> ± 0,01	0,43 <sup>c</sup> ± 0,01
<i>n-6</i>	1,90 <sup>d</sup> ± 0,13	3,14 <sup>c</sup> ± 0,05	3,79 <sup>b</sup> ± 0,02	9,84 <sup>a</sup> ± 0,06
<i>n-6/n-3</i>	5,11 <sup>c</sup> ± 0,87	0,89 <sup>d</sup> ± 0,01	7,69 <sup>b</sup> ± 0,12	23,03 <sup>a</sup> ± 0,61
<i>cis9 trans11</i> C18:2 (CLA)	0,54 <sup>a</sup> ± 0,02	0,44 <sup>bc</sup> ± 0,01	0,46 <sup>b</sup> ± 0,02	0,43 <sup>c</sup> ± 0,01
DFA	39,59 <sup>c</sup> ± 1,85	44,31 <sup>b</sup> ± 0,05	39,14 <sup>c</sup> ± 0,01	46,75 <sup>a</sup> ± 0,26
OFA	49,69 <sup>a</sup> ± 0,82	45,30 <sup>b</sup> ± 0,38	49,25 <sup>a</sup> ± 0,18	44,36 <sup>c</sup> ± 0,16
AI	2,71 <sup>a</sup> ± 0,16	2,13 <sup>b</sup> ± 0,01	2,70 <sup>a</sup> ± 0,01	1,88 <sup>c</sup> ± 0,01
TI	3,18 <sup>a</sup> ± 0,32	1,78 <sup>c</sup> ± 0,01	3,17 <sup>a</sup> ± 0,01	2,37 <sup>b</sup> ± 0,01
H/H	0,43 <sup>c</sup> ± 0,04	0,57 <sup>b</sup> ± 0,01	0,45 <sup>c</sup> ± 0,01	0,67 <sup>a</sup> ± 0,01

Objaśnienia: <sup>a,b,c,d</sup> – wartości oznaczone w wierszach różnymi literami wskazują na różnice istotne statystycznie (p < 0,05); ΣSCFA – suma krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (C4:0-C10:0); ΣSFA – suma średnio i długołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych; ΣMUFA – suma monoenowych kwasów tłuszczowych; ΣPUFA – suma polienowych kwasów tłuszczowych; DFA – hipocholesterolemiczne kwasy tłuszczowe (ΣUFA+C18:0); OFA – hipercholesterolemiczne kwasy tłuszczowe (ΣSFA-C18:0); AI – wskaźnik aterosogenności; TI – wskaźnik trombogenności; H/H – stosunek hipocholesterolemiczny do hipercholesterolemicznego

Dane zamieszczone w tabeli 3 wskazują, że tłuszcz wydzielony z objętych badaniem jogurtów naturalnych charakteryzował się najwyższą zawartością sprzężonego kwasu

linolowego *cis9trans11 C18:2 (CLA)* (średnia zawartość tego kwasu wynosiła 0,54% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych). Istotnie niższe zawartości tego kwasu stwierdzone zostały w tłuszczu wydzielonym z objętych badaniem jogurtów wzbogaconych, średnie zawartości kształtowały się w przedziale od 0,43% do 0,46% (tab. 3). Zawartość CLA w jogurtach naturalnych badanych przez Żegarską i in. (2008) była zróżnicowana, zależała od terminu badania, w jakim zostały zakupione. W jogurtach badanych w okresie od stycznia do lutego zawartość tego kwasu wahała się od 0,37% do 0,49% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych, a w jogurtach kupowanych w okresie od czerwca do lipca mieściła się w przedziale od 0,97% do 1,25%. Badania Paszczyk i Czarnowskiej-Kujawskiej (2022) wykazały, że średnia zawartość kwasu CLA w jogurtach naturalnych dostępnych na rynku w Olsztynie w 2021 roku wynosiła 0,51%, a w jogurtach z dodatkiem musli i ziaren zbóż - 0,48% kwasów tłuszczowych ogółem. Zamieszczone w tabeli 3 wyniki wskazują, że tłuszcz wydzielony z badanych jogurtów naturalnych charakteryzował się najniższymi zawartościami kwasów *n-3* i *n-6*. Średnia zawartość kwasów *n-3* w jogurtach naturalnych wynosiła 0,38% kwasów tłuszczowych ogółem. Zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w jogurtach wzbogaconych była istotnie wyższa, wynosiła od 0,43% i 0,49% w jogurtach wzbogaconych JW. 3 i JW. 2 i 3,51% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych w jogurtach wzbogaconych JW. 1 (tab. 3). Średnia zawartość kwasów *n-6* w jogurtach naturalnych kształtowała się na poziomie 1,90% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych, a w jogurtach wzbogaconych była istotnie wyższa i wynosiła od 3,14% w jogurtach wzbogaconych JW. 1 do 9,84% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych w jogurtach JW. 3. Stosunek kwasów *n-6/n-3* w jogurtach naturalnych wynosił 5,11. W jogurtach wzbogaconych stosunek tych kwasów był bardzo zróżnicowany, od 0,89 (JW. 1) do 22,03 (JW. 3)(tab. 3). Korzystniejszy stosunek kwasów z rodziny *n-6* do *n-3* w jogurtach wzbogaconych JW. 1 może świadczyć o silniejszych właściwościach prozdrowotnych tych jogurtów. Stosunek kwasów *n-6/n-3* w jogurtach naturalnych zakupionych na rynku w Olsztynie w okresie od maja do czerwca 2019 roku wynosił 4,77, a w jogurtach z dodatkiem owoców i ziaren zbóż 10,57 (Paszczyk i Łuczyńska 2020). W handlowych jogurtach naturalnych badanych przez Paszczyk i Czarnowską-Kujawską w 2021 roku stosunek tych kwasów wynosił 5,07, a w jogurtach z dodatkami 3,32 (Paszczyk i Czarnowska-Kujawska 2022).

Przeprowadzone badania wykazały, że jogurty wzbogacone JW. 1 i JW. 3 charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością pożądaných hipocholesterolemicznych kwasów tłuszczowych (DFA) oraz istotnie niższą zawartością niepożądanych hipercholesterolemicznych kwasów tłuszczowych (OFA), w porównaniu z jogurtami naturalnymi oraz jogurtami wzbogaconymi JW. 2 (tab. 3). Istotnie wyższe zawartości pożądaných kwasów DFA oraz istotnie niższe zawartości niepożądanych kwasów OFA w jogurtach naturalnych, w porównaniu z jogurtami naturalnymi z dodatkami, zaobserwowano w poprzednich badaniach Paszczyk i Czarnowskiej-Kujawskiej (2022).

Obliczane na podstawie oznaczonego składu kwasów tłuszczowych wskaźniki oceny jakości lipidów (AI, TI i H/H) mogą wskazywać na kierunek oddziaływania spożywanych

lipidów zawartych w żywności na zdrowie człowieka. W związku z tym, im niższe są wartości indeksów AI (wskaźnik aterogenności); TI (wskaźnik trombogenności) oraz wyższe wartości H/H (stosunek hipocholesterolemiczny do hipercholesterolemicznego), tym wyższa jakość prozdrowotna produktu. W objętych badaniem jogurtach wartości tych wskaźników były bardzo zróżnicowane. Najniższą wartością AI, wynoszącą 1,88 charakteryzowały się jogurty z dodatkiem owoców, zbóż i ziaren roślin oleistych (JW. 3), a najwyższą jogurty naturalne (tab. 3). Najniższą wartość wskaźnika TI (1,78) stwierdzono w jogurtach wzbogaconych (JW. 1), a najwyższą 3,18 w jogurtach naturalnych. Jogurty naturalne oraz jogurty z dodatkiem owoców i zbóż (JW2) charakteryzowały się niższymi wartościami wskaźnika H/H, w porównaniu z pozostałymi badanymi jogurtami wzbogaconymi, w których wartości tego wskaźnika były istotnie wyższe (tab. 3). Poprzednie badania własne (Paszczyk i Łuczyńska 2020) oraz (Paszczyk i Czarnowska-Kujawska 2022) również wykazały, że jogurty naturalne charakteryzowały się istotnie wyższymi wartościami wskaźników AI i TI oraz istotnie niższymi wartościami H/H w porównaniu z jogurtami z dodatkami.

#### 4. Podsumowanie

Przeprowadzone badania dostarczają konsumentowi podstawowej wiedzy na temat zawartości kwasów tłuszczowych, zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz wskaźników oceny jakości lipidów w dostępnych na rynku jogurtach naturalnych oraz wzbogaconych. Uzyskane w badaniach wyniki wskazują, że jogurty różnych kategorii, tj. naturalne czy wzbogacone, mają różną zawartość kwasów tłuszczowych oraz różne wartości wskaźników oceny jakości lipidów. W badanych jogurtach wzbogaconych stwierdzono istotnie wyższą zawartość kwasów PUFA i kwasów z rodziny *n-3* i *n-6* oraz istotnie niższą kwasów SFA, w porównaniu z badanymi jogurtami naturalnymi. Zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) była istotnie wyższa w jogurtach naturalnych w porównaniu z jogurtami wzbogaconymi. Jogurty z dodatkiem owoców, musli i ziaren roślin oleistych oraz jogurty z dodatkiem owoców, zbóż i ziaren roślin oleistych charakteryzowały się istotnie wyższymi zawartościami pożądaných hipocholesterolemicznych kwasów tłuszczowych (DFA) oraz istotnie niższymi zawartościami niepożądanych hipercholesterolemicznych kwasów tłuszczowych (OFA) w porównaniu z jogurtami naturalnymi i jogurtami z dodatkiem owoców i ziaren zbóż. Obliczone na podstawie oznaczonego składu kwasów tłuszczowych wskaźniki jakości lipidów w jogurtach naturalnych i wzbogaconych były zróżnicowane. Badane jogurty wzbogacone charakteryzowały się istotnie niższymi wartościami wskaźników AI i TI oraz istotnie wyższymi wartościami wskaźnika H/H w porównaniu z jogurtami naturalnymi, co wskazuje na wyższą wartość prozdrowotną jogurtów wzbogaconych. Przedstawione w pracy informacje mogą być cenne dla konsumentów przy planowaniu racjonalnej diety. Konsument, wykorzystując informacje na temat składu kwasów tłuszczowych oraz wartości wskaźników oceny jakości lipidów może wybrać spośród jogurtów oferowanych w sprzedaży detalicznej produkty o silniejszym działaniu prozdrowotnym.

## Literatura

1. Akalin A. S., Tokusoğlu Ö., Gönc S., Aycan S. (2007). Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. *International Dairy Journal*, 17, 1089-1095.
2. Białek A., Tokarz A. (2009). Źródła pokarmowe oraz efekty prozdrowotne sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA). *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM*, 1, 1-12.
3. Gomez-Candela C, Bermejo L. M, Kohen V. L. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations* 26(2), 323-329.
4. Chin S. F., Liu W., Storkson J. M., Ha Y. L., Pariza M. W. (1992). Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 185-197.
5. Cichosz G. (2007). Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. *Przegląd Mleczarski*, 5, 4-8.
6. Cichosz G., Czczot H. (2015). Tłuszcz mlekowy – unikalny pod każdym względem. *Polski Merkuriusz Lekarski*, XXXVIII(225), 174-179.
7. Domagała J., Sady M., Najgebauer-Lejko D., Czernicka M., Wieteska I. (2009). The content of conjugated linoleic acid (CLA) in cream fermented using different starter cultures. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (5-6), 745-751.
8. Frelich J., Šlachta M., Hanuš O., Špička J., Samková E., Węglarz A., Zapletal P. (2012). Seasonal variation in fatty acid composition of cow milk in relation to the feeding system. *Animal Science Papers and Reports*, 30 (3), 219-229.
9. Gutiérrez Alvarez L. F. (2016). Conjugated linoleic acid in milk and fermented milks: Variation and effects of the technological processes. *VITAE*, 23, 20, 134-145.
10. Hanuš O., Krížová L., Samková E., Špička J., Kucera J., Klimešová M., Roubal P., Jedelská R. (2016). The effect of cattle breed, season and type of diet on the fatty acid profile of raw milk. *Archives Animal Breeding*, 59, 373-380.
11. Hunter J. E, Zhang J, Kris-Etherton P. M. (2010). Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 46-63.
12. IDF 182:2002 (ISO 15884:2002). Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters.
13. Ivanova A., Hadzhinikolova L. (2015). Evaluation of nutritional quality of common carp (*Cyprinus carpio*L.) lipids through fatty acid ratios and lipid indices. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21 (Supplement 1), 180-185.
14. Jensen R. G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Sciences*, 85, 295-350.
15. Kelsey J. A., Corl B. A., Collier R. J., Bauman D. E. (2003). The effect of breed, parity and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Sciences*, 86, 2588-97.

16. Kretowska-Kułas M. (1993). Badanie jakości produktów spożywczych. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa, 87-88.
17. Król J., Brodziak A. (2012). Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych mleka w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXXIX(3), 211-220.
18. Kuczyńska B., Wasilewska A., Biczysko M., Banasiewicz T., Drews M. (2011). Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe – mechanizmy działania, potencjalne zastosowania kliniczne oraz zalecenia dietetyczne. *Nowiny Lekarskie*, 80, 4, 299-304.
19. Kudełka W. (2005). Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych w Unii Europejskiej oraz w Polsce. *Zeszyty Nauk Akademii Ekonomicznej w Krakowie*, 678, 149-160.
20. Kycia K., Krysiński C. (2014). Jakość mikrobiologiczna i higieniczna rynkowych jogurtów z mleka koziego w kontekście ich właściwości terapeutycznych. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 95(1), 186-191.
21. Mojka K. (2014). Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki - charakterystyka i funkcje. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 95(3), 541-549.
22. Osmari E. K., Cecato U., Macedo F. A. F., Souza N. E. (2011). Nutritional quality indices of milk fat from goats on diets supplemented with different roughages. *Small Ruminant Research*, 98, 128-132.
23. Paszczyk B., Łuczyńska J. (2020). Fatty acids profile, conjugated linoleic acid contents and fat quality in selected dairy products available on the Polish market. *Czech Journal of Food Sciences*, 38, 109-114.
24. Paszczyk B., Czarnowska-Kujawska M. (2022). Fatty acid profile, conjugated linoleic acid content, and lipid quality indices in selected yogurts available on the Polish market. *Animals*, 12, 96.
25. Przybojewska B., Rafalski H. (2003). Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy (CLA). *Przegląd Mleczarski*, 5, 173-175.
26. Reklewska B., Bernatowicz E. (2002). Bioaktywne składniki frakcji tłuszczowej mleka. *Przegląd Hodowlany*, 70, 1-6.
27. Sajdakowska M., Grasewicz M. (2016). Wybrane walory zdrowotne jogurtów w opinii konsumentów. *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego Ekonomia i Organizacja Gospodarki Żywnościowej*, 114, 121-130.
28. Santin Junior I. A., Silva K. C. C., Cucco D. C. (2019). Milk fatty acids profile and the impact on human health. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences*, 10(1), 555779.
29. Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H. (2004). Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. *International Dairy Journal*, 14, 1-15.
30. Ulbricht T. L. V., Southgate D. A. T. (1991). Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985-992.

31. Wajs J., Stobiecka M. (2020). Wpływ mlecznych produktów fermentowanych na zdrowie człowieka. Repetytorium Uniwersytetu Wrocławskiego, *Zdrowie i styl życia. Determinanty długości życia*, 133-152.
32. Żegarska Z., Paszczyk B., Borejszo Z. (2008). Conjugated linoleic acid (CLA) and *trans* C18:1 and C18:2 isomers in fat of some commercial dairy products. *Polish Journal of Natural Sciences*, 23, 248–256.
33. Żelazna K., Popielarska A. (2003). Mleko i produkty mleczarskie w żywieniu człowieka. *Przemysł Spożywczy*, 10, 26-31.
34. Zmarlicki S. (2009). Wartość odżywcza białek mleka, tłuszczu mlekowego, laktozy. *Przemysł Spożywczy*, 63(11), 33-37.
35. Zunong M., Hanada M., Aibibula Y., Okamoto M., Tanaka K. (2008). Variations in conjugated linoleic acid concentrations in cow's milk, depending on feeding systems in different seasons. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(10), 1466-1472.

### **Composition of fatty acids and selected indicators for assessing the quality of lipids in natural and enriched yogurts**

#### **Abstract**

The aim of the study was to determine the composition of fatty acids, with particular emphasis on the content of *cis9trans11* C18:2 acid (CLA) and indicators for assessing the quality of lipids in natural yogurts and enriched yogurts available on the Polish market. The research material consisted of yogurts made from cow's milk, which included natural yogurts (10 samples) and enriched yogurts (12 samples). The fatty acid composition of fat isolated from the yogurts covered by the study was determined using the GC-FID method.

The results obtained in the research indicate that yogurts of different categories, i.e. natural or enriched, are characterized by different contents of fatty acids and different values of lipid quality indicators. The tested enriched yogurts showed a significantly higher total content of PUFA acids, *n*-3 and *n*-6 acids but a significantly lower content of SFA acids compared to the tested natural yogurts. The content of conjugated linoleic acid *cis9trans11* C18:2 (CLA) was significantly higher in natural yogurts. Yogurts with the addition of fruit, muesli and oilseeds as well as those with fruits, cereals and oilseeds (JW. 1 and JW. 3) were characterized by significantly higher contents of desirable hypocholesterolemic fatty acids (DFA) and significantly lower contents of undesirable hypercholesterolemic fatty acids (OFA), compared to natural yogurts and yogurts with added fruit and cereal grains (JW. 2). The indicators for assessing the quality of lipids in natural and enriched yogurts, calculated on the basis of the determined fatty acid composition were varied. The tested yogurts with the addition of fruits, muesli and oilseeds (JW. 1) as well as those with added fruits, cereal grains and oilseeds were characterized by significantly lower values of the AI and TI indexes and significantly higher values of the H/H index

compared to natural yogurts and yoghurts with added fruits and cereal grains (JW 2), which indicates their higher health-promoting quality.

## Ocena właściwości sorpcyjnych ekstrudatów kukurydzianych wzbogaconych zieloną herbatą matcha

Millena Ruszkowska\*, Maja Chaleńska

*Akademia Morska w Gdyni, Wydział Zarządzania i Nauk o Jakości, Katedra Zarządzania Jakością*

*\*Autor korespondencyjny: m.ruszkowska@wznj.umg.edu.pl*

### Streszczenie

Celem pracy była ocena właściwości sorpcyjnych, determinujących stabilność przechowalniczą, ekstrudatów kukurydzianych wzbogaconych proszkiem zielonej herbaty matcha. Badany materiał wytworzono w wyciarkarce jednoślindakowej typu S-45A-12-10U, w zakresie temperatur 105 °C/130 °C/110 °C. W procesie ekstruzji otrzymano trzy warianty ekstrudatów kukurydzianych o zawartości: 1,5 i 3,5%, sproszkowanej zielonej herbaty matcha i 2% dodatkiem substancji spulchniającej oraz próbkę kontrolną z 98% dodatkiem grysu kukurydzianego i 2% dodatkiem substancji spulchniającej. Badania obejmowały oznaczenie zawartości i aktywności wody, ocenę barwy oraz wyznaczenie izoterm sorpcji metodą statyczną, w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07-0,98$  wraz z matematycznym opisem przebiegu izoterm za pomocą modelu BET. Parametry teoretycznego modelu BET wykorzystano do oszacowania pojemności warstwy monomolekularnej oraz powierzchni właściwej sorpcji. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wytworzone przekąski różniły się zawartością i aktywnością wody oraz parametrami barwy. Na podstawie oceny właściwości sorpcyjnych stwierdzono, że zwiększenie dodatku zielonej herbaty matcha do 3,5% zwiększyło warstwę monomolekularną i powierzchnię właściwą sorpcji, co miało korzystny wpływ na trwałość przechowalniczą wytworzonych ekstrudatów.

**Słowa kluczowe:** ekstrudaty, izoterma sorpcji, jakość, stabilność przechowywania, zielona herbata matcha

### 1. Wprowadzenie

Dynamika codziennego życia sprawia, że konsumenci coraz częściej sięgają po przekąski między głównymi posiłkami. W rezultacie na rynku rośnie popyt na zdrowe, syjące i wygodne przekąski. Na szczególną uwagę, ze względu na preferencje konsumentów, zasługują przekąski ekspandowane, produkowane metodą ekstruzji. Produkty te charakteryzują się różnorodnością kształtów, smaków, kolorów, ale przede wszystkim specyficzną chrupiącą teksturą pożądaną przez konsumentów (Beck i in. 2018, Ribeiro i in. 2019). Wysoka atrakcyjność produktów i niskie koszty produkcji sprawiają, że są one dobrą matrycą do tworzenia funkcjonalnej żywności. Ekstrudowane przekąski są często wzbogacane różnymi surowcami bogatymi w składniki odżywcze (Dehghan-Shoara i in. 2010, Makowska i in. 2013, Oniszczuk i in. 2015, Peressini i in. 2015, Poliszko i in. 2019). Przykładem surowca, który może zostać wykorzystany do wzbogacenia ekstrudowanych produktów jest herbata matcha. Badania nad wykorzystaniem sproszkowanej zielonej herbaty matcha w



produktach spożywczych były dotychczas prowadzone w ograniczonym zakresie (Dietz i in. 2017, Mikołajczak i Sobiechowska 2019). W ostatnich latach matcha stała się popularna jako środek aromatyzujący lub suplement diety w napojach, lodach i produktach piekarniczych (Bonuccelli i in. 2018). Matcha to rodzaj zielonej herbaty otrzymywanej w postaci proszku, która jest uprawiana i przetwarzana w specjalnych warunkach: liście herbaty muszą być przykryte i zacienione przez co najmniej dwadzieścia dni przed zbiorem (Dietz i in. 2017). Zabieg ten skutecznie chroni aminokwasy, kofeinę, chlorofil i inne składniki matchy poprzez ograniczenie światła słonecznego (Ouyang i in. 2020). Badania naukowe wykazały, że spożywanie matchy może mieć korzystny wpływ na hamowanie wzrostu guzów nowotworowych (Schroder i in. 2019), ma działanie przeciwłękowe (Kurauchi i in. 2019), hamuje spadek funkcji poznawczych (Baba i in. 2021), redukuje stres (Unno i in. 2019) oraz łagodzi stany zapalne i uszkodzenia wątroby (Wang i in. 2017). W związku z tym w niniejszym badaniu podjęto próbę wytworzenia ekstrudowanych przekąsek wzbogaconych proszkiem zielonej herbaty matcha, a celem badania była ocena właściwości sorpcyjnych, które determinują okres przechowywania wytworzonych ekstrudatów.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał

Podstawowym materiałem dla produktów ekstrudowanych była kaszka kukurydziana firmy MLEXER (KK) oraz zielona herbata matcha w proszku firmy MOYA (M). Matcha w proszku, podobnie jak kaszka kukurydziana, została zakupiona w sprzedaży detalicznej. Zgodnie z deklaracją producenta, herbata matcha pochodziła z obszaru Uji w prefekturze Kioto, znanego z najstarszych upraw najwyższej jakości herbaty w Japonii. Dwa główne składniki – KK i M – zostały użyte do stworzenia mieszanek grysu kukurydzianego z matchą w stężeniu 1,5 i 3,5%, z dodatkiem 2% substancji wypełniającej (BP) fosforanu sodu ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ). Materiał badany oznaczono w pracy jako KK, M, 0, I, II, gdzie KK – to gryś kukurydziany; M – proszek zielonej herbaty matcha, 0 – ekstrudat kontrolny; I – ekstrudat z dodatkiem 1,5% proszku matcha i 2% substancji spulchniającej (BP); oraz II – ekstrudat z dodatkiem 3,5% proszku matcha i 2% substancji spulchniającej (BP) (tab. 1). Tak przygotowane mieszanki pakowano do worków PET i kondycjonowano przez 2 h w temperaturze  $20 \pm 2$  °C.

Proces wyłaczania prowadzono w wyłaczarce jednoślindakowej (typ S 45A-12-10U) produkcji Metalchem z Gliwic o następujących parametrach technicznych: moc grzewcza głowicy – 0,3 kW, moc silnika – 10 kW, moc grzewcza silnika – 2,8 kW, średnica dyszy – 4,5 mm, prędkość obrotowa ślimaka – 125 obr/min, nominalna średnica cylindra – 45 mm. Proces wyłaczania prowadzono w temperaturze 105 °C/130 °C/110 °C (odpowiednio strefa I/strefa II/głowica). Temperatura głowicy została zdefiniowana jako temperatura procesu wyłaczania.

**Tabela 1.** Proporcje składników użytych do produkcji ekstrudatów

Mie- szanka/ produkt	(%)			Temperatura wytlaczania
	Kasza kukurydziana (KK)	Matcha (M)	Środek wypełniający (BP)	Strefa I/strefa II/głowa
0	98,0	-	2,0	105 °C/130 °C/110 °C
I	96,5	1,5	2,0	105 °C/130 °C/110 °C
II	94,5	3,5	2,0	105 °C/130 °C/110 °C

Wytworzone ekstrudaty pozostawiono do schłodzenia na około 2 godziny w temperaturze otoczenia ( $20 \pm 2$  °C) i wilgotności około 53%. Po tym czasie ekstrudaty zapakowano do worków PET i przechowywano w czystym, chłodnym i suchym miejscu do czasu rozpoczęcia analiz.

## 2.2. Metody

W badanych produktach oznaczono: zawartość wody metodą suszenia pod normalnym ciśnieniem do stałej masy (Krełowska-Kułas 1993) oraz aktywność wody w aparacie AquaLab (Series 3 model TE firmy Decagon Devices, INC, Pullman, WA, USA). Zawartość i aktywność wody oznaczono w trzech z dokładnością  $\pm 0,003$  w temperaturze 20 °C.

Pomiar barwy gotowych ekstrudatów został określony w międzynarodowym systemie CIE przy użyciu kolorymetru Konica-Minolta CR 400 dla standardowego obserwatora 2° i oświetlenia D 65. Pomiar barwy wykonano przy użyciu skali CIE Lab, w której  $L^*$  określono jako jasność surowców i ekstrudatów (w skali 0-100),  $a^*$  jako równowagę barwy czerwonej (+100) i zielonej (-100), a wskaźnik barwy  $b^*$  jako równowagę barwy żółtej (+100) i niebieskiej (-100). Oznaczenie wykonano w dziewięciu powtórzeniach.

Właściwości sorpcyjne wyznaczono w oparciu o metodę statyczną. Zasada wyznaczania izoterm sorpcji polegała na określeniu równowagi wilgotnościowej pomiędzy badaną próbką (ekstrudatem) a atmosferą o określonej wilgotności względnej, kontrolowanej nasyconymi roztworami soli, w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07-0,98$ , w temperaturze 20 °C. Czas do osiągnięcia równowagi układu wynosił 45 dni (od umieszczenia próbek w eksykatorach). W celu ochrony próbek przed rozwojem mikroflory, w eksykatorach umieszczono krystaliczny tymol o aktywności wody od 0,69. Próbkę o masie około 3 g umieszczono w eksykatorach. Oznaczenia przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Na podstawie początkowej masy produktu i zmian zawartości wody obliczono równowagową zawartość wody po czasie przechowywania przyjętym w badaniu (45 dni) i wykreślono izotermę sorpcji.

Empirycznie uzyskane izotermy stanowiły podstawę do opracowania charakterystyki właściwości sorpcyjnych. Zgodnie z zaleceniami IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) wybrano klasyczny model BET (Timmermann 2003) (równanie 1).

$$V = \frac{V_m C a_w}{(1-a_w)(1+(C-1)a_w)} \quad (1)$$

gdzie:

V – równowaga zawartości wody (g wody/100 g s.m.),  
 a<sub>w</sub> – aktywność wody,  
 V<sub>m</sub> – zawartość wody w monowarstwie (g wody/100 g s.m.),  
 C – stała energetyczna.

W celu określenia przydatności modelu do opisu uzyskanych izoterm sorpcji przeprowadzono analizę błędu średniokwadratowego (RMS) wyrażonego w %, który obliczono na podstawie równania 2 oraz sumy kwadratów odchyłeń wartości teoretycznych od wartości empirycznych (SKO).

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum \left( \frac{z_{we} - z_{wp}}{z_{we}} \right)^2}{N}} * 100 \quad (2)$$

gdzie:

N – liczba danych,  
 z<sub>we</sub> – doświadczalna równowagowa zawartość wody (g H<sub>2</sub>O/100 g s.m.),  
 z<sub>wo</sub> – prognozowana równowagowa zawartość wody (g H<sub>2</sub>O/100 g s.m.).

Ponadto, znając objętość pary wodnej zaadsorbowanej w temperaturze poniżej temperatury wrzenia i tak zwaną powierzchnię osadzania wody, powierzchnię właściwą adsorbentu obliczono na podstawie równania 3 (Paderewski 1999).

$$a_{sp} = \omega \frac{V_m}{M} N \quad (3)$$

gdzie:

a<sub>sp</sub> – powierzchnia właściwości sorpcji (m<sup>2</sup>/g),  
 M – masa cząsteczkowa wody (18 g/mol),  
 N – liczba Avogadra – 6,023·10<sup>23</sup> cząsteczek/mol,  
 ω – powierzchnia siadania wody – 1,05·10<sup>-19</sup> m<sup>2</sup>/cząsteczkę.

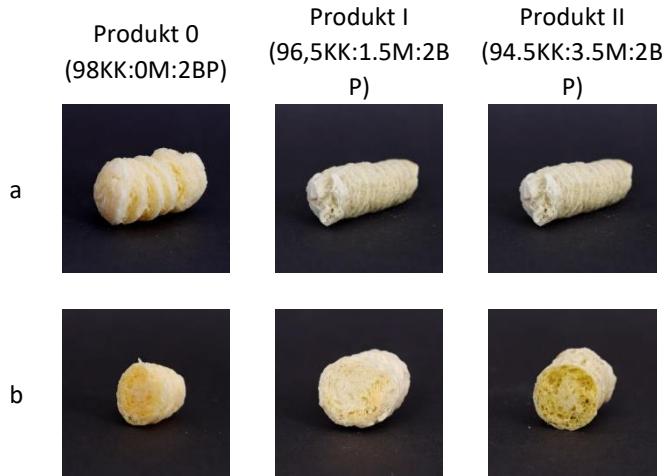
### 2.3. Analiza statystyczna

Do obliczeń statystycznych wykorzystano pakiet statystyczny STATISTICA 13.3 oraz arkusz kalkulacyjny Excel. Weryfikację hipotezy o zróżnicowaniu średniego poziomu badanych cech w zależności od ilości sproszkowanej zielonej herbaty matcha dodanej do materiału wyjściowego KK, przeprowadzono przy użyciu testu F Fishera-Snedecora (Mynarski 2003). Weryfikację wszystkich hipotez przeprowadzono przy poziomie istotności α = 0,05, w oparciu o wartość prawdopodobieństwa testowego p. Przyjęto, że p < 0,05 oznacza istotną różnicę w zmiennej zależnej.

### 3. Wyniki i dyskusja

Proces ekstruzji mieszanek przygotowanych na bazie kaszki kukurydzianej i sproszkowanej zielonej herbaty matcha (tab. 1) przebiegał prawidłowo. W trakcie procesu nie zaobserwowano ślizgania się surowca oraz blokowania przepływu masy w cylindrze ekstrudera. W wyniku procesu ekstruzji, przy zastosowaniu jednakowych parametrów tempera-

turowych (105 °C/130 °C/110 °C), uzyskano ekstrudowane przekąski charakteryzujące się zbliżonym kształtem (rys. 1).



**Rysunek 1.** Powierzchnia (a) i przekrój (b) ekstrudatów kukurydzianych próbki kontrolnej (produkt 0) i wzbogaconej proszkiem zielonej herbaty matcha (produkty I i II)

Zgodnie z danymi literaturowymi zawartość wody jest istotnym parametrem charakteryzującym trwałość przechowalniczą produktów ekstrudowanych, zależnym przede wszystkim od składu przetwarzanej mieszanki, ale także od warunków procesu ekstruzji (Gondek i in. 2013, Ruszkowska 2018, Wójtowicz 2008). Kaszka kukurydziana i zielona herbata matcha w proszku różniły się zawartością wody. Ponadto kaszka kukurydziana zawierała nieco więcej wody niż kaszka badana przez Mikołajczak i Sobiechowską (2019). Wysoka zawartość wody wiązała się z wysokim poziomem aktywności wody w produkcie (tab. 2). Wykazane wyniki sugerują, że produkt zakupiony w handlu detalicznym charakteryzował się niskim poziomem stabilności mikrobiologicznej. Oceniając zawartość wody w wytworzonych ekstrudatach stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy produktem kontrolnym 0 a ekstrudatami wzbogaconymi w proszek zielonej herbaty matcha I i II (tab. 2). Jednocześnie stwierdzono, że dodatek sproszkowanej herbaty matcha wpłynął na obniżenie zawartości wody w produktach wzbogaconych, w porównaniu do produktu bazowego 0. Podobne zależności wykazali Mikołajczak i Sobiechowska (2019) stosując 1 i 3% dodatek sproszkowanej herbaty matcha, przy zachowaniu tej samej temperatury procesu ekstruzji. Na podstawie analizy aktywności wodnej wytworzonych ekstrudatów, podobnie jak w przypadku oznaczenia zawartości wody, stwierdzono, że produkt kontrolny 0 charakteryzował się najwyższym poziomem aktywności wodnej, a dodatek proszku zielonej herbaty matcha obniżył ten parametr. Uzyskane ekstrudaty wzbogacone proszkiem z zielonej herbaty matcha charakteryzowały się niską aktywnością wody charakterystyczną dla chrupiących i kruchych ekstrudowanych produktów. Jednocześnie uzyskane wartości aktywności wody były na poziomie zbliżonym do uzyskanych przez Gondek

i in. (2017) w przypadku wysokobłonnikowych przekąsek zbożowych i warzywnych (Gondek i in. 2017), a także w pieczywie chrupkim (Gondek i in. 2013, Jakubczyk i in. 2015) oraz ekstrudatach wzbogaconych spiruliną i chlorellą (Ruszkowska 2018).

**Tabela 2.** Zawartość i aktywność wody w surowcach i ekstrudatach

Produkt	Zawartość wody (g/100 g produktu)	Aktywność wody
Kasza kukurydziana (KK)	12,93 <sup>d</sup> ± 0,20	0,6622 <sup>e</sup> ± 0,0006
Matcha w proszku (M)	1,14 <sup>a</sup> ± 0,08	0,0587 <sup>a</sup> ± 0,0009
0	7,11 <sup>c</sup> ± 0,02	0,3400 <sup>d</sup> ± 0,0030
I	6,40 <sup>b</sup> ± 0,12	0,3112 <sup>c</sup> ± 0,0010
II	6,10 <sup>b</sup> ± 0,04	0,2916 <sup>b</sup> ± 0,0052

Objaśnienia: Jednakowe symbole literowe obok wartości średnich oznaczają brak istotnej różnicy między średnimi, SD – odchylenie standardowe.

Barwa jest fizyczną cechą produktu, która wpływa na pozytywne lub negatywne postrzeganie produktu przez konsumenta. Barwa może także wskazywać na skład chemiczny produktu, zwłaszcza, gdy jest on wzbogacony w surowce bogate w chlorofil (Ruszkowska 2018). Wartości składowych modelu CIE L\*a\*b\* dla otrzymanych ekstrudatów przekąsek przedstawiono w tabeli 3.

**Tabela 3.** Parametry barwy wytworzonych ekstrudatów

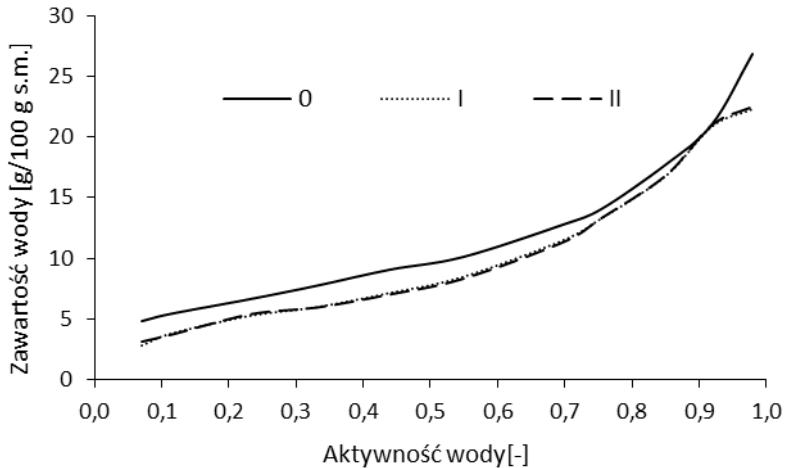
Produkt	L*	a*	b*
0	85,48 <sup>c</sup> ± 0,28	-3,65 <sup>c</sup> ± 0,18	35,63 <sup>c</sup> ± 0,4
I	74,02 <sup>b</sup> ± 0,22	-3,82 <sup>b</sup> ± 0,09	32,13 <sup>b</sup> ± 0,27
II	64,82 <sup>a</sup> ± 0,51	-4,71 <sup>a</sup> ± 0,2	27,48 <sup>a</sup> ± 0,41
	<b>p</b>		
	0,000	0,000	0,000

Objaśnienia: SD – odchylenie standardowe; Jednakowe symbole literowe obok wartości średnich oznaczają brak istotnej różnicy między średnimi.

Dodatek proszku matcha do ekstrudatów obniżył wartość parametru L\* określającego jasność produktów, w porównaniu do ekstrudatu 0 bez dodatków (tab. 3). Podobne wyniki zaobserwował zespół Mikołajczak i Sobiechowskiej (2019), jednak uzyskane wartości parametru L\* w ekstrudatach z dodatkiem 1 i 3% proszku matcha były na znacznie wyższym poziomie niż w przeprowadzonych badaniach. Ujemne wartości uzyskane dla parametru a\* wskazywały na zieloną barwę wyprodukowanych ekstrudatów. Najwyższy udział barwy zielonej zaobserwowano dla ekstrudatu z 3,5% dodatkiem sproszkowanej zielonej herbaty matcha (-4,71), a uzyskane wartości były niższe od uzyskanych przez zespół Mikołajczak i Sobiechowskiej (2019). Parametr b\* (zmiana barwy w zakresie od niebieskiej do żółtej) przyjmował wartości dodatnie dla wszystkich badanych produktów. W ekstrudatach 0 wartość parametru b\* wynosiła 35,63 (tab. 3). Dodatek sproszkowanej zielonej herbaty obniżył wartość parametru b\*. Analiza parametryczna wartości składowych modelu

CIE  $L^*a^*b^*$ , wykazała statystycznie istotne różnice pomiędzy składowymi modelem dla wyprodukowanych ekstrudatów (tab. 3)

Przebieg izoterm sorpcji wytworzonych ekstrudatów przedstawiono na rysunku 1. Wyznaczone empirycznie izotermy sorpcji charakteryzowały się sigmoidalnym kształtem, typowym dla produktów bogatych w skrobię, wykazując podobieństwo do izoterm typu II, zgodnie z teorią i klasyfikacją Brunauer i in. (1938).



**Rysunek 2.** Izotermy sorpcji produktów 0, I i II w temperaturze 20 °C

Zatem sigmoidalny przebieg krzywych izoterm sorpcji wskazywał na proces tworzenia się wielkocząsteczkowych warstw wody na powierzchni ekstrudatów (Ruszkowska 2018). Izotermy sorpcji wytworzonych ekstrudatów charakteryzowały się ciągłym przebiegiem w całym zakresie aktywności wody otoczenia  $a_w=0,07-0,98$ , można więc przypuszczać, że w ocenianych ekstrudatach nie nastąpiła zmiana struktury determinowana wzrostem stopnia uporządkowania poszczególnych składników. Podobne zależności stwierdzili Combrzyński i in. (2017), Tańska i in. (2017) oraz Ruszkowska (2018). Oceniając przebieg uzyskanych izoterm sorpcji stwierdzono, że w zakresie aktywności wody 0,07-0,33 w wytworzonych ekstrudatach zachodził proces desorpcji, przy czym produkt kontrolny 0 charakteryzował się większą zawartością wody w całym zakresie aktywności wody. Z kolei izotermy sorpcji wyznaczone dla ekstrudatów wzbogaconych proszkiem zielonej herbaty matcha I i II charakteryzowały się podobnym przebiegiem (rys. 2).

W celu określenia parametrów mikrostruktury powierzchni wytworzonych ekstrudatów, dane empiryczne opisujące izotermy sorpcji przekształcono zgodnie z modelem BET, w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07 \div 0,33$ . Parametry równania BET: pojemność monowarstwy  $v_m$  i stała energetyczna  $c_e$ , błąd średniokwadratowy (RMS) oraz suma kwadratów odchyień wartości teoretycznych od wartości empirycznych (SKO) wraz z wartościami błędów standardowych przedstawiono w tabeli 4. Wielkość warstwy monomolekularnej  $v_m$  wyznaczona z modelu BET dla produktów wzbogaconych proszkiem herbaty matcha

mieściła się w zakresie 7,07-7,33 g/100 g s.m. (tab. 4). W produkcie kontrolnym 0, wytworzonym z grysu kukurydzianego i 2% środka spulchniającego, wartość pojemności warstwy monomolekularnej wynosiła 6,82 g/100 g s.m. i była niższa niż w wytworzonych ekstrudatach z matchy I i II. Zwiększenie udziału zielonej herbaty matcha do 3,5% przyczyniło się do zwiększenia powierzchni warstwy monomolekularnej. Oceniając ekstrudaty wzbogacone herbatą matcha stwierdzono, że produkt II charakteryzował się najwyższą trwałością przechowalniczą, ponieważ miał najwyższą wartość warstwy monomolekularnej. Znaczny rozwój monowarstwy chroni produkt przed pogorszeniem jakości z powodu absorpcji pewnej ilości wody. Jednocześnie uzyskane zakresy aktywności wody wytworzonych ekstrudatów odpowiadające warstwie monomolekularnej charakteryzowały się małą zmiennością, a zatem w wytworzonych przekąskach występowała korelacja pomiędzy pojemnością monowarstwy, a aktywnością wody (tab. 4). Kolejnym wyznaczonym parametrem była stała energetyczna  $c_e$ , która odzwierciedla różnicę pomiędzy entalpią desorpcji monowarstwy a entalpią parowania ciekłego adsorbentu (Paderewski 1999) (tab. 4). Uzyskane wyniki stałej  $c_e$  ( $c_e \geq 2$ ) potwierdzają sigmoidalny kształt krzywej sorpcji i pozwalają przypuszczać, że w badanych produktach zachodził jedynie proces sorpcji fizycznej. W celu potwierdzenia charakteru zachodzących zjawisk należałoby przeprowadzić badania spektroskopowe. Na podstawie uzyskanych wartości sumy kwadratów odchyień (SKO) oraz błędu średniokwadratowego (RMS) stwierdzono, że parametry modelu BET dobrze opisują proces sorpcji na powierzchni wytworzonych ekstrudatów.

Charakteryzując mikrostrukturę powierzchni produktów wzbogaconych w herbatę matcha, wyznaczoną na podstawie pojemności warstwy monomolekularnej z równania BET, stwierdzono, że w wytworzonych wariantach produktów ekstrudowanych powierzchnia właściwa sorpcji była większa niż w produkcie kontrolnym 0, wytworzonym z grysu kukurydzianego i środka spulchniającego.

**Tabela 3.** Parametry równania BET

Produkt	$v_m$	$a_w$	$c_e$	$R^2$	RMS	SKO	$a_{sp}$
0	6,82	0,1545	3,45	0,9999	4,99	5,68	239,5
I	7,07	0,3579	6,14	0,9441	8,07	10,30	248,5
II	7,33	0,3717	5,47	0,9674	7,36	10,02	257,5

Na podstawie uzyskanych wartości parametrów mikrostruktury produktów wzbogaconych proszkiem matcha można przypuszczać, że powierzchnia właściwa sorpcji będąca pochodną pojemności warstwy monomolekularnej była determinowana właściwościami nowej struktury ekstrudatu powstałej w procesie ekstruzji.

#### 4. Wnioski

1. Produkty z 1,5 i 3% dodatkiem proszku zielonej herbaty matcha cechowały się niższą zawartością wody, w porównaniu z produktem kontrolnym 0.

2. Ekstrudaty wzbogacane proszkiem zielonej herbaty cechowały się niską aktywnością wody, charakterystyczną dla kruchych i chrupkich produktów ekstrudowanych.
3. Analiza parametrów składowych modelu CIE Lab wykazała, że oceniane ekstrudaty różniły się przede wszystkim jasnością, wynikającą z dodatku proszku zielonej herbaty matcha, a wraz ze wzrostem udziału matchy obniżał się poziom parametru L\*.
4. Izotermy sorpcji wytworzonych ekstrudatów miały przebieg zgodny z II typem izoterm według klasyfikacji Brunauera.
5. Na podstawie oceny pojemności warstwy monomolekularnej wyznaczonej w oparciu o model BET stwierdzono, że największą pojemnością warstwy monomolekularnej, a tym samym największą trwałością przechowalniczą, charakteryzował się ekstrudat z 3,5% dodatkiem herbaty matcha.
6. Zwiększenie dodatku herbaty matcha w recepturze spowodowało wzrost powierzchni właściwej sorpcji.

### Literatura

1. Baba Y., Kaneko T., Takihara T. (2021). Matcha consumption maintains attentional function following a mild acute psychological stress without affecting a feeling of fatigue: A randomized placebo-controlled study in young adults. *Nutrition Research*, 88, 44-52.
2. Beck S. M., Knoerzer K., Foerster M., Mayo S., Philipp C., Arcot J. (2018). Low moisture extrusion of pea protein and pea fibre fortified rice starch blends. *Journal of Food Engineering*, 231, 61-71.
3. Bonuccelli G., Sotgia F., Lisanti M. P. (2018). Matcha green tea (MGT) inhibits the propagation of cancer stem cells (CSCs), by targeting mitochondrial metabolism, glycolysis and multiple cell signalling pathways. *Aging*, 10(8), 1867-1883.
4. Brunauer S., Emmet P. H., Teller E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-319.
5. Combrzyński M., Mościcki L., Kwaśniewska A., Oniszcuk T., Wójtowicz A., Sołowiej B., Gładyszewska B., Muszyński S. (2017). Charakterystyka sorpcji wilgoci przez ekstrudyjnie gotowaną skrobię ochronną luźnych pianek amortyzujących. *Międzynarodowa Agrofizyka*, 31, 457-463.
6. Dehghan-Shoar Z., Hardacre A. K., Brennan C. S. (2010). The physico-chemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry*, 123(4), 1117-1122.
7. Dietz C., Dekker M., Piqueras-Fiszman B. (2017). An intervention study on the effect of matcha tea, in drink and snack bar formats, on mood and cognitive performance. *Food Research International*, 99, 72-83.
8. Gondek E., Gauze J., Jakubczyk E., Janczar-Smuga M., Nowak D., Stasiak M., Kamińska - Dwórznicza A., Samborska K. (2017). Wysokobłonnikowe przekąski zbożowo-warzywne – analiza wybranych właściwości fizycznych i funkcjonalnych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 590, 15-27.



9. Gondek E., Jakubczyk E., Wieczorek B. (2013). Właściwości fizyczne bezglutenowego pieczywa chrupkiego. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 574, 29-38.
10. Jakubczyk E., Linde M., Gondek E., Kamińska-Dwórznicza A., Samborska K., Antoniuk A. (2015). The effect of phytosterols addition on the textural properties of extruded crisp bread. *Journal of Food Engineering*, 167, 156-161.
11. Krełowska-Kułas M. (1993). *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE, Warszawa.
12. Kurauchi Y., Devkota H. P., Hori, K., Nishihara Y., Hisatsune A., Seki, T., Katsuki H. (2019). Anxiolytic activities of Matcha tea powder, extracts, and fractions in mice: Contribution of dopamine D1 receptor- and serotonin 5-HT1A receptor-mediated mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 59, 301-308.
13. Makowska A, Mildner-Szkodlarz S, Obuchowski W. (2013). Effect of brewer's spent grain addition on properties of corn extrudates with an increased dietary fibre content. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(1), 19-24.
14. Mikołajczak N., Sobiechowska D. A. (2019). Wpływ różnych dodatków sproszkowanej zielonej herbaty matcha na wybrane cechy jakościowe pytyśków kukurydzianych, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 34(1), 127-142.
15. Mynarski S. (2003). *Analiza danych rynkowych i marketingowych z wykorzystaniem programu Statistica*. Wyd. AE, Kraków
16. Oniszczyk A., Wójtowicz A., Oniszczyk T., Olech M., Nowak R., Wojtunik K., Klimek M., Krawczyk W., Hajnos M. (2015). Extruded corn gruels containing linden flowers: quantitation of phenolic compounds and selected quality characteristics. *Open Chemistry*, 13(1), 1209-1217.
17. Ouyang Q., Wang L., Park B., Kang R., Wang Z., Chen Q., Guo Z. (2020). Assessment of matcha sensory quality using hyperspectral microscope imaging technology. *LWT- Food Science and Technology*, 125, 109254.
18. Peressini D., Foschia M., Tubaro F., Sensidori A. (2015). Impact of soluble dietary fibre on the characteristics of extruded snacks. *Food Hydrocolloids*, 43, 73-81.
19. Poliszko N., Kowalczewski P. Ł., Rybicka I., Kubiak P., Poliszko S. (2019). The effect of pumpkin flour on quality and acoustic properties of extruded corn snacks. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14(2), 121-129.
20. Ribeiro J. C., Lima R. C., Maia M. R., Almeida A. A., Fonseca A. J., Cabrita A. R. J., Cunha L. M. (2019). Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllodes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *LWT- Food Science and Technology*, 113, 108335.
21. Schroder L., Marahrens P., Koch J., Heidegger H., Vilsmeier T., Phan-Brehm T., Richter D. (2019). Effects of green tea, matcha tea and their components epigallocatechin gallate and quercetin on MCF-7 and MDA-MB-231 breast carcinoma cells. *Oncology Reports*, 43(2), 387-396.

22. Tańska M., Konopka I., Ruszkowska M. (2017). Sensory, physico-chemical and water sorption properties of corn extrudates enriched with spirulina. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 250-257.
23. Timmermann E. O. (2003). Multilayer sorption parameters: BET or GAB values? *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1-3, 235-260.
24. Tyszkiewicz S. (1987). Aktywność wody produktów spożywczych. Definicja. Metody bezwzględno pomiaru. *Wzorce, Przemysł Spożywczy*, 2, 51.
25. Unno K., Furushima D., Hamamoto S., Iguchi K., Yamada H., Morita A., Nakamura Y., (2019). Stress-reducing effect of cookies containing matcha green tea: Essential ratio among theanine, arginine, caffeine and epigallocatechin gallate. *Heliyon*, 5(5), e01653.
26. Wang D., Gao Q., Wang T., Zhao G., Qian F., Huang J., Wang Y. (2017). Green tea infusion protects against alcoholic liver injury by attenuating inflammation and regulating the PI3K/Akt/eNOS pathway in C57BL/6 mice. *Food & Function*, 8(9), 3165-3177.
27. Wójtowicz A. (2008). Influence of raw materials wetting and extrusion-cooking process conditions on selected properties of instant cereal grits. *Acta Agrophysica*, 11(2), 545-556.
28. Paderewski M. (1999). *Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej*, WNT, Warszawa.
29. Ruszkowska M. (2018). Jakość ekstrudatów kukurydzianych wzbogacanych spiruliną i chlorellą, Monografia, UMG, Gdynia.

## **Evaluation of sorption properties of corn extrudates enriched with matcha green tea**

### **Abstract**

The aim of the study was to evaluate the sorption properties, determining the storage stability, of corn extrudates enriched with matcha green tea powder. The test material was produced in a single-screw extruder type S-45A-12-10U, in the temperature range of 105 °C/130 °C/110 °C. The extrusion process yielded 3 variants of corn extrudates with: 1.5 and 3.5%, addition of matcha green tea powder and 2% addition of raising agent, and a control sample with 98% corn porridge and 2% addition of raising agent. The methodology of the study included determination of water content and activity, evaluation of color, and determination of sorption isotherms by static method, in the range of water activity  $a_w=0.07\div 0.98$ , along with mathematical description of the course of isotherms using the BET model. The parameters of the theoretical BET model were used to estimate the capacity of the monomolecular layer and the specific surface area of sorption. Based on the study, it was found that the produced snack products differed in water content and activity, as well as in color parameters. Based on the evaluation of sorption properties, it was found that increasing the addition of matcha green tea powder to 3.5% increased the monomolecular layer and the specific surface area of sorption. Thus, it was concluded

that under the assumed extrusion parameters, increasing the proportion of matcha green tea powder to 3.5% had a favorable effect on the storage life of the extrudates produced.

## Wpływ rutyny na tworzenie heterocyklicznych amin aromatycznych w reakcjach Maillarda

Karolina Rybarska\*, Krzysztof Przygoński

*Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – PIB,  
Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych*

*\*Autor korespondencyjny: karolina.rybarska@ibprs.pl*

### Streszczenie

Mięso to jedno z podstawowych źródeł pożywienia na świecie. Podczas termicznego przetwarzania mięsa, w reakcjach Maillarda, tworzą się heterocykliczne aminy aromatyczne (HAA). Heterocykliczne aminy aromatyczne to szereg związków, z których część została przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowana do grupy związków możliwie lub potencjalnie rakotwórczych, w tym najpowszechniej występujące: 2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna (PhIP) i 2-amino-3,8-dimetylimidazo[4,5-f]chinoksalina (MeIQx). Ilość powstających HAA można ograniczyć poprzez stosowanie antyoksydantów, ponieważ w reakcjach ich tworzenia uczestniczą wolne rodniki.

Celem badań była ocena wpływu dodatku rutyny na zawartość HAA w grillowanym mięsie wieprzowym.

Zastosowana metoda HPLC-DAD umożliwiła jednoczesne oznaczenie siedmiu związków (IQ, MeIQ, MeIQx, Di-MeIQx, PhIP, harman i norharman). Dla rozdzielonych związków wyznaczono współczynniki determinacji  $R^2$  wynoszące od 0,9942 do 0,9999, dla zakresu stężeń substancji wzorcowych od 0,02  $\mu\text{g/ml}$  do 5  $\mu\text{g/ml}$ . Precyzja wyrażona jako CV zawierała się w przedziałach od 4,4% do 19,4% dla 0,33  $\mu\text{g HAA/g}$  mięsa, od 4,3% do 25,5% dla 0,13  $\mu\text{g HAA/g}$  mięsa oraz od 8,4% do 32,9% dla 0,03  $\mu\text{g HAA/g}$  mięsa. Granica wykrywalności była zbliżona dla wszystkich związków HAA i wynosiła od 0,04  $\text{ng/g}$  do 0,3  $\text{ng/g}$  mięsa, a odzysk od 54,8% do 115,3%.

Stwierdzono, że wraz z wydłużaniem czasu grillowania zawartość każdego oznaczonego związku zwiększała się. Zarówno w próbkach kontrolnych, jak i z dodatkiem rutyny, w największych ilościach powstawał PhIP i harman. Dodatek rutyny istotnie zmniejszał ilość tworzących się HAA. Zmniejszanie poziomu powstających HAA nie było skorelowane ze zwiększaniem ilości dodatku rutyny, a najwyższe stężenie rutyny w mięsie nie zawsze powodowało najbardziej intensywne hamowanie tworzenia poszczególnych HAA.

**Słowa kluczowe:** heterocykliczne aminy aromatyczne, mięso, przeciwutleniacze, rutyna, HPLC

### 1. Wprowadzenie

Mięso to jedno z podstawowych źródeł pożywienia na świecie, szczególnie w UE. Według danych OECD-FAO globalne spożycie mięsa w 2020 r. wynosiło ponad 300 mln ton. Mięso i produkty mięsne zwykle wymagają obróbki termicznej w celu poprawy ich

bezpieczeństwa oraz wartości sensorycznych (Rahman i in. 2018). Podczas termicznej obróbki mięsa, w reakcjach Maillarda, powstaje szereg różnorodnych substancji smakowo-zapachowych wpływających na wrażenia organoleptyczne, jak również tworzą się związki szkodliwe dla zdrowia, w tym heterocykliczne aminy aromatyczne (HAA) (Sugimura i in. 2004).

Heterocykliczne aminy aromatyczne to związki zbudowane z układów pierścieniowych, w tym pierścieni heterocyklicznych zawierających azot. Do pierścieni heterocyklicznych zwykle przyłączone są egzocykliczne grupy aminowe (Majcherczyk i Surówka 2015). Powstają w produktach bogatych w białko, w tym właśnie w mięsie. Na intensywność tworzenia HAA w mięsie największy wpływ ma temperatura obróbki termicznej. Szczególnie temperatury bliskie 200 °C intensyfikują powstawanie HAA. Biorąc pod uwagę metodę obróbki oraz rodzaj mięsa, największe ilości HAA powstają podczas smażenia i grillowania oraz w mięsie czerwonym, szczególnie w wieprzowinie (Majcherczyk i Surówka 2015, Kondjoyan i in. 2006).

Heterocykliczne aminy aromatyczne można podzielić na dwie grupy, w zależności od tego, w jakich warunkach powstają (Nadeem i in. 2021). Termiczne HAA, inaczej aminomidazoareny, powstają w temperaturze od 100 do 300 °C (Gibis 2016). Należą do nich imidazochinoliny, imidazochinoksaliny oraz imidazopirydyny. Prekursorami powstawania termicznych HAA są aminokwasy, cukry oraz kreatyna/kreatynina (De Andrés i in. 2010). W temperaturze powyżej 300 °C powstają związki zaliczane do pirolitycznych HAA, inaczej aminokarbolin (Alaejos i in. 2008, De Andrés i in. 2010). Zalicza się do nich pirydoindole i dipirydoimidazole. Pirolityczne HAA powstają głównie w wyniku pirolizy aminokwasów (Nadeem i in. 2021).

Wyższa konsumpcja mięsa czerwonego oraz mięsa przetworzonego wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na liczne nowotwory, co wiąże się z obecnością czynników rakotwórczych, m.in. HAA (Zheng i Lee 2009). IARC zaklasyfikowała dziewięć HAA (MeIQ, MeIQx, PhIP, AαC, MeAαC, Glu-P-1, Glu-P-2, Trp-P-1, Trp-P-2) jako związki możliwie rakotwórcze oraz IQ jako prawdopodobnie rakotwórczy dla człowieka (Majcherczyk i Surówka 2015). Związkami HAA występującymi w przetworzonym mięsie w największych ilościach są MeIQx – 2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina (do 480 ng/g) i PhIP – 2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna (do 50 ng/g) (Skog i in. 1998).

Powstawanie heterocyklicznych amin aromatycznych w wyniku termicznej obróbki mięsa można ograniczyć przez stosowanie dodatków przeciwutleniających, ponieważ w reakcjach powstawania HAA biorą udział wolne rodniki (Dashwood 2002). Antyoksydantami, które wykazują hamujące działanie w stosunku do reakcji tworzenia HAA są m.in. witaminy, np. niacyna, kwas askorbinowy i tokoferol, związki fenolowe, np. katechina, kwercetyna czy rutyna oraz antocyjany (Gibis 2016).

Celem badań była ocena wpływu dodatku rutyny, zastosowanej w różnych stężeniach, na zawartość poszczególnych HAA oraz ich sumy w próbkach grillowanego mięsa wieprzowego.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiały i odczynniki

Do badań wykorzystano mielone mięso wieprzowe zakupione w sieci handlowej oraz hydrat rutyny (minimum 95%, HPLC, Sigma-Aldrich). użytymi wzorcami HAA były: 2-amino-3-metylo-3H-imidazo[4,5-f]chinolina (IQ), 2-amino-3,4-dimetylo-3H-imidazo[4,5-f]chinolina (MeIQ), 2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina (MeIQx), 2-amino-3,4,8-trimetylo-3H-imidazo[4,5-f]chinoksalina (4,8-DiMeIQx) i 2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna (PhIP) firmy Toronto Research Chemicals oraz 1-metylo-9-pirydo[3,4-b]indol (harman) i 9H-pirydo[3,4-b]indol (norharman) firmy MERCK. Ponadto wykorzystano: kofeinę do HPLC (IS) firmy MERCK, dichlorometan, kwas solny, kwas ortofosforowy, bezwodny siarczan sodu, fosforan monopotasowy, fosforan dipotasowy, wodorotlenek sodu, stężony roztwór amoniaku, octan amonu czystości cz.d.a., metanol i acetonitryl do HPLC firmy Chempur, ziemię okrzemkową CELITE 545 (MERCK), suchy azot 5.0 (Linde Gaz) oraz wodę o przewodnictwie do 0,055  $\mu\text{S}$  podwójnie oczyszczoną w systemie TKA Pacific. W analizach zastosowano kolumny Bond Elut PRS, 500 mg, 3 ml firmy Agilent Technologies, kolumny SPE, DSC-18, 500 mg, 3 ml oraz 100 mg, 1 ml firmy Supelco-MERCK oraz filtry strzykawkowe PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  firmy Biosens.

### 2.2. Metodyka badań

Wykorzystano zmodyfikowaną metodykę przedstawioną w pracy Gibis i Weiss (2010).

#### 2.2.1. Homogenizacja i smażenie

Mięso mielone zhomogenizowano blenderem, podzielono na dwie części: mięso surowe i mięso do grillowania. Mięso przed badaniami było przechowywane w lodówce w temperaturze 3-8 °C. Mięso surowe z dodatkiem odpowiednich ilości wzorców HAA wykorzystano do walidacji.

Z mięsa do grillowania uformowano kotleciki o masie 12 g w kształcie placków o średnicy około 4-5 cm i grubości około 1 cm. Przygotowano próbki kontrolne (bez dodatku rutyny) oraz z dodatkiem rutyny w ilości 0,1%, 0,5% lub 1,0%. Rutynę dodawano do mięsa i całość ucierano w młynku. Próbki (kontrolne i z dodatkiem rutyny) grillowano na grillu elektrycznym przez 6 min, 12 min i 18 min, co 2 min odwracając kotleciki. Próbki zważono, a do dalszego etapu analiz przechowywano je w zamrażarce w temperaturze  $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Masy próbek przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Masa próbek kontrolnych i próbek z dodatkiem rutyny przed grillowaniem i po grillowaniu

Czas grillowania (min)	Dodatek rutyny (RUT) (%)			
	0,0 (próbka kontrolna)	0,1	0,5	1,0
	Masa mięsa (g)			
6	9,22	9,93	9,21	9,58
12	6,71	8,12	7,31	8,46
18	3,85	5,46	5,59	5,97

### 2.2.2. Ekstrakcja dichlorometanem (DCM)

Do polipropylenowej próbówki odważono około 3 g rozdrobnionego mięsa, roztworzono w 8 ml 1,5 M roztworu wodorotlenku sodu przy zastosowaniu ultradźwięków (łaźnia ultradźwiękowa) oraz wytrząsania przez 3 h. Zhydrolizowaną mieszaninę przelano do zlewki zawierającej 9,5 g ziemi okrzemkowej i 2 g bezwodnego siarczanu sodu, wymieszano, dodano 30 ml DCM i umieszczono w łaźni ultradźwiękowej na 10 min. Uzyskaną zawiesinę napełniono kolumnę polipropylenową o pojemności 100 ml. Kolumnę przemyto 45 ml DCM (1-2 ml/min), a ekstrakt zbierano w kolbie. Ekstrakt przepuszczono przez kolumnkę PRS wcześniej kondycjonowaną 2 ml DCM, którą po ekstrakcji wysuszono azotem.

### 2.2.3. Frakcjonowanie

Kolumnkę PRS przepłukano 6 ml 0,01 M roztworu kwasu solnego (1-2 ml/min), eluat odrzucono. Następnie z kolumnki PRS wymyło związki HAA do kolby nr 1, kolejno przy użyciu 15 ml mieszaniny metanolu i 0,1 M roztworu kwasu solnego (6:4, v:v) i 2 ml wody. Roztwór zneutralizowano 0,5 ml stężonego roztworu amoniaku i rozcieńczono wodą do stężenia metanolu wynoszącego poniżej 20% (około 20 ml wody). Z kolumnki PRS, po wymyciu mniej polarnych HAA, do kolby nr 2 eluowano pozostałe HAA, przy użyciu 20 ml 0,5 M roztworu octanu amonu o pH=8 (1-2 ml/min).

Eluat z kolby nr 1 koncentrowano w kolumnie SPE C18 500 mg (4-5 ml/min), wstępnie kondycjonowanej 5 ml metanolu i 5 ml wody. Kolumnkę wysuszono w strumieniu azotu. Eluat z kolby nr 2 koncentrowano w ten sam sposób w kolumnie SPE C18 100 mg, ale po koncentracji kolumnkę przepłukano jeszcze 2 ml wody.

Związki HAA wymyło z kolumnek do próbek szklanych przy pomocy mieszaniny metanolu i stężonego roztworu amoniaku (9:1, v:v). Do elucji z kolumnki SPE C18 500 mg wykorzystano 1,4 ml wspomnianej mieszaniny, a do elucji z kolumnki SPE C18 100 mg – 0,8 ml mieszaniny. Eluaty odparowano w strumieniu azotu i roztworzono w 300 µl roztworu wzorca wewnętrznego – roztwór kofeiny 2 µg/ml w mieszaninie metanolu i fazy A, stosowanej w analizie chromatograficznej (1:1, v:v).

### 2.2.4. Analiza chromatograficzna

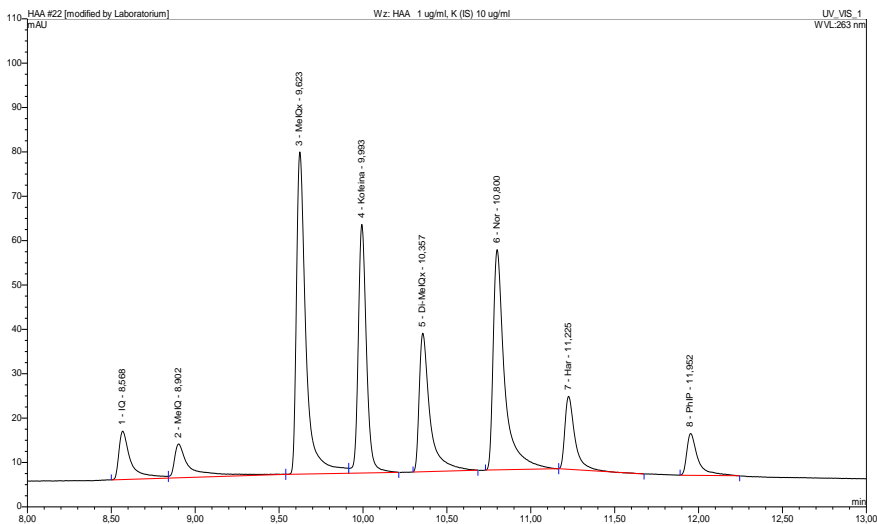
Wykorzystano chromatograf cieczerowy firmy DIONEX, z detekcją DAD. Rozdzielanie prowadzono w kolumnie KINETEX C18 (150×4,6 mm, 2,6 μm, 100 Å) firmy Phenomenex. Kolumnę termostatowano w temperaturze 30 °C. Zastosowano fazę ruchomą o przepływie 0,6 ml/min w układzie gradientowym. Fazą A był bufor wodny KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,2 g) + K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (2,0 g) w 1 dm<sup>3</sup> o pH=3,2, a fazą B był acetonitryl. Zastosowano następujący program gradientowy: przez 1 min 0% B, od 1 do 15 min zwiększany udział składnika B do 50%, od 15 do 18,5 min 50% B, od 18,5 do 19 min zmniejszany udział składnika B do 0%, od 19 do 28 min 0% B. Do detekcji HAA zastosowano długość fali równą 263 nm. Do kolumny dozowano 50 μl analitu z fiolek o pojemności 250 μl. Analit przed umieszczeniem w fiołce prze-filtrowano przez filtr strzykawkowy PTFE 0,45 μm.

### 2.2.5. Analiza statystyczna

Wyniki przedstawiono jako średnią z trzech oznaczeń ± odchylenie standardowe i poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (p < 0,05). Do wyznaczenia różnic pomiędzy średnimi zastosowano test t-Studenta. Do analiz wykorzystano program Statistica 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

## 3. Wyniki i dyskusja

W celu optymalizacji rozdziału chromatograficznego wykonano szereg badań miesza-niny siedmiu wzorców HAA (IQ, MeIQ, MeIQx, Di-MeIQx, norharman, harman, PhIP) oraz wzorca wewnętrznego (IS) – kofeiny, zmieniając skład fazy ruchomej oraz prędkość prze-pływu. Opisane wcześniej warunki pozwoliły na uzyskanie prawidłowo rozdzielonych pi-ków. Przykładowy rozdział chromatograficzny wybranych HAA i kofeiny przedstawiono na rysunku 1.



Rysunek 1. Chromatogram wzorców HAA (1 μg/ml) i IS (10 μg/ml)



Wyznaczono krzywe kalibracyjne dla zakresu stężeń HAA od 5 µg/ml do 0,02 µg/ml oraz wartość współczynnika determinacji. Wartość współczynnika determinacji dla badanych HAA zawierała się w zakresie od 0,9942 do 0,9999, co wskazuje na zachowaną liniowość dla oznaczanych stężeń HAA. Na podstawie analizy próbek wzbogaconych (siedem HAA dodanych do 3 g matrycy mięsnej, na trzech poziomach fortyfikacji: 1,0 µg, 0,4 µg, 0,1 µg) wyznaczono granicę wykrywalności (LOD), granicę oznaczalności (LOQ), dokładność (jako odzysk) oraz precyzję (jako współczynnik zmienności – CV). Wykonano trzy powtórzenia analiz próbek wzbogaconych. Granica wykrywalności była zbliżona dla wszystkich związków HAA i mieściła się w przedziale od 0,04 do 0,30 ng/g mięsa. Odzysk wynosił, w zależności od zawartości oznaczonego związku, od 63,1% do 101,7% dla 0,33 µg HAA/g mięsa, od 54,8% do 115,3% dla 0,13 µg HAA/g mięsa oraz od 60,3% do 114,1% dla 0,03 µg HAA/g mięsa. Precyzja wynosiła, w zależności od zawartości oznaczonego związku, od 4,4% do 19,4% dla 0,33 µg HAA/g mięsa, od 4,3% do 25,5% dla 0,13 µg HAA/g mięsa oraz od 8,4% do 32,9% dla 0,03 µg HAA/g mięsa. Wartości wyznaczonych parametrów zebrano w tabeli 2.

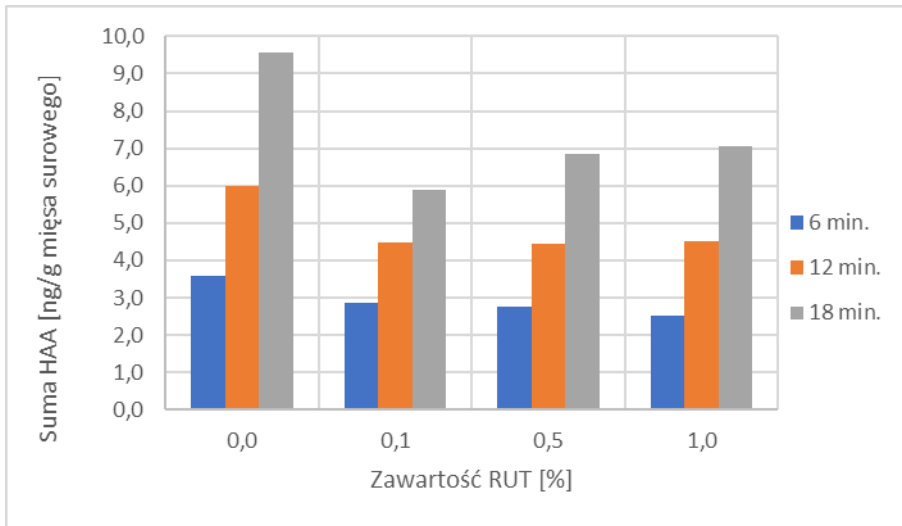
Wyniki oznaczeń zawartości sumy HAA oraz poszczególnych HAA (IQ, MeIQ, MeIQx, Di-MeIQx, norharmanu, harmanu i PhIP) w grillowanych kotleczkach przedstawiono na rysunkach 2-9.

W badaniach opisanych w literaturze stwierdzono, że wraz ze wzrostem czasu grillowania ilość tworzących się HAA wzrasta (Gibis i Weiss 2010). Tendencję tę zaobserwano również w opisanej pracy dla próbek bez dodatków, gdzie zawartość każdego oznaczanego HAA zwiększała się. W próbce grillowanej przez 6 min łączna zawartość związków HAA wynosiła 3,60 ng/g, w próbce grillowanej przez 12 min było to 5,99 ng/g (wzrost o 66%), a w grillowanej przez 18 min – 9,55 ng/g (wzrost o 59% w stosunku do 12 min i o 165% w stosunku do 6 min). Wyniki są zbliżone do otrzymanych przez Puangsombata i in. (2012), gdzie sumaryczna zawartość HAA w wieprzowinie wynosiła od kilku do kilkunastu ng/g. W próbkach z dodatkami rutyny również stwierdzono wzrost sumy związków HAA wraz z wydłużaniem czasu grillowania.

**Tabela 2.** Wartości współczynnika determinacji, granic wykrywalności i oznaczalności, odzysku oraz precyzji oznaczeń

Związek	Współczynnik determinacji R <sup>2</sup>	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Ilość dodanych wzorców HAA (ng/g)	Odzysk (%)	Precyzja (%)
IQ	0,9974	0,20	0,40	0,33	97,9	19,4
				0,13	89,4	25,5
				0,03	76,7	32,9
MeIQ	0,9942	0,30	0,60	0,33	70,2	14,8
				0,13	54,8	17,0
				0,03	60,3	14,1
MeIQx	0,9999	0,05	0,10	0,33	101,7	9,4
				0,13	94,1	11,6
				0,03	106,8	9,5
Di-MeIQx	0,9970	0,08	0,16	0,33	88,2	9,2
				0,13	115,3	9,9
				0,03	100,7	10,9
norharman	0,9954	0,04	0,80	0,33	94,1	4,4
				0,13	103,3	13,2
				0,03	114,1	22,1
harman	0,9991	0,20	0,40	0,33	96,1	12,5
				0,13	69,8	20,7
				0,03	70,3	20,9
PhIP	0,9991	0,30	0,60	0,33	63,1	9,2
				0,13	89,4	4,3
				0,03	83,8	8,4

Objaśnienia: LOD – granica wykrywalności, LOQ – granica oznaczalności

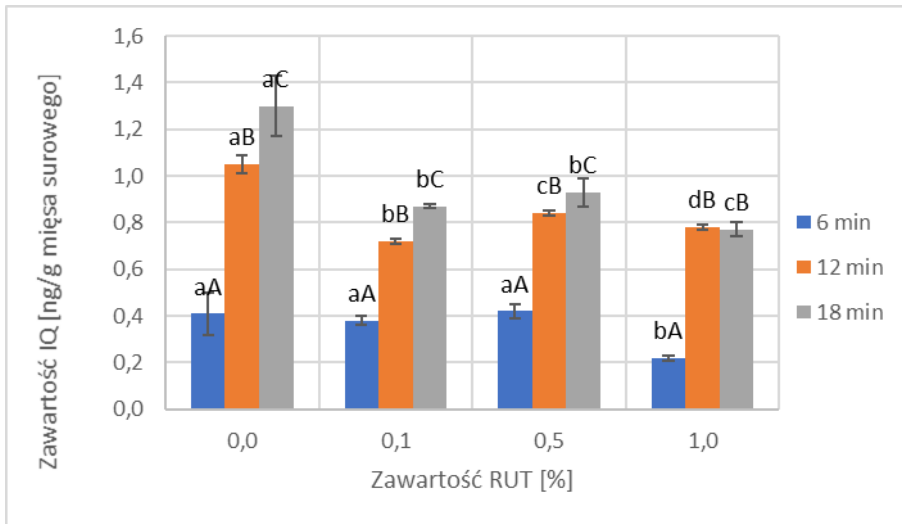


**Rysunek 2.** Suma HAA w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Rozważając zawartość poszczególnych HAA w próbkach bez dodatku rutyny zauważono, że podczas grillowania, niezależnie od czasu, powstało najwięcej harmanu i PhIP (25-37% ogólnej ilości), dalej IQ oraz MeIQ (11-21%), a najmniej MeIQx, Di-MeIQx oraz norharmanu (2-4%). Jak wykazali Gibis (2016) oraz Skoga (1998), w mięsie wieprzowym w największych ilościach tworzyły się PhIP, MeIQx oraz Di-MeIQx. W próbkach z dodatkami rutyny występowały w największych ilościach również harman i PhIP, przy czym wraz ze wzrostem poziomu antyoksydantu, zarówno ilość, jak i procentowy udział w sumie HAA, malały w przypadku PhIP oraz wzrastały, nawet do ilości przekraczającej poziom oznaczony w próbie kontrolnej, w przypadku harmanu. Wyjątek stanowiły próbki grillowane przez 12 min, dla których ilość dodatku rutyny nie miała istotnego wpływu na zawartość w nich PhIP i harmanu.

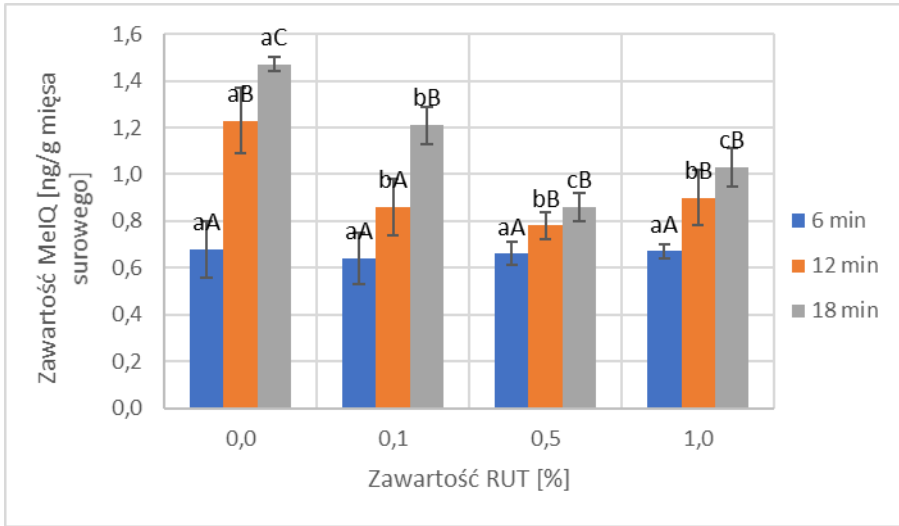
W próbkach z dodatkiem rutyny zauważono zróżnicowany jej wpływ na ilości tworzących się HAA. W porównaniu z próbką kontrolną zmniejszyła się ogólna ilość HAA oraz ilość większości z poszczególnych związków. Porównując próbki grillowane przez ten sam czas, ale z dodatkiem rutyny w różnych ilościach stwierdzono, że największa ilość zastosowanego antyoksydantu nie zawsze skutkowała największą redukcją ilości HAA. Zwiększenie zawartości rutyny spowodowało zmniejszenie sumy HAA w próbkach grillowanych przez 6 min. W próbkach grillowanych przez 12 min ilość dodatku nie miała wpływu na zawartość sumaryczną HAA, a w grillowanych przez 18 min suma HAA wzrastała wraz ze wzrostem ilości rutyny. Różnorodny wpływ rutyny widoczny jest szczególnie dla norharmanu i harmanu, gdzie dodatek na poziomie 1,0% w większości wykazywał najsłabsze działanie ograniczające powstawanie HAA, a nawet zawartość norharmanu i harmanu w tych próbkach przewyższała ich ilość w próbkach kontrolnych.

W opisanym badaniu wykazano, że dodatek przeciwutleniacza może zarówno ograniczać powstawanie HAA, jak i je indukować. Jest to zgodne z wynikami innych autorów. Nadeem i in. (2021) stwierdzili, że antyoksydanty neutralizując wolne rodniki obniżają powstawanie HAA. W pracy Gibis i Weiss (2010) przedstawiono, że dodatek wyciągu z hibiskusa do marynaty obniżał ilość tworzących się MeIQx oraz PhIP, a zwiększał harmanu i norharmanu w smażonych pasztecikach wołowych. Busquets Santacana (2012) stwierdziła, że w zależności od typu i stężenia, przeciwutleniacze mogą działać zarówno anty-, jak i prooksydacyjnie, oraz że większość antyoksydantów inicjowała tworzenie HAA w grillowanym mięsie.



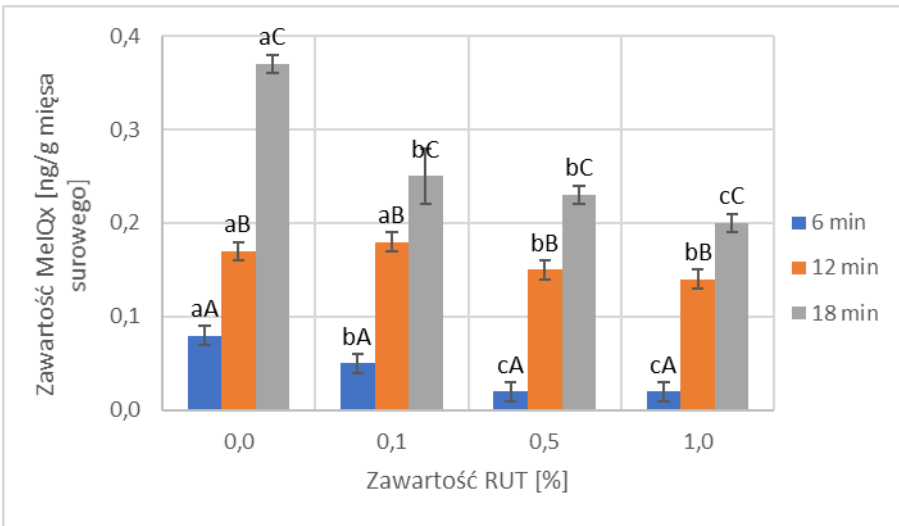
**Rysunek 3.** Zawartość IQ w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: Małymi literami (a, b, c, d) przedstawiono różnice statystycznie istotne między średnimi w zależności od zawartości przeciwutleniacza w mięsie przed grillowaniem. Oznaczenia dużymi literami (A, B, C) przedstawiają różnice statystycznie istotne między średnimi w zależności od czasu grillowania ( $p < 0,05$ ).



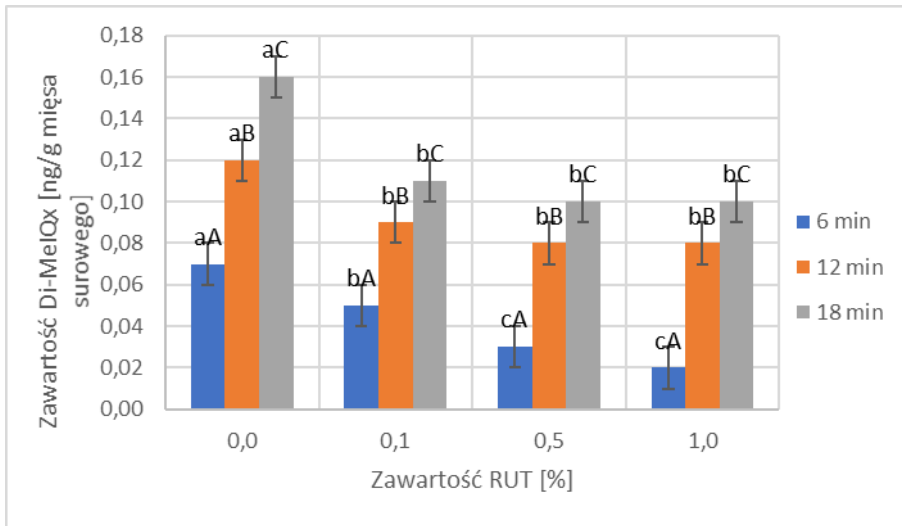
**Rysunek 4.** Zawartość MeIQ w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3



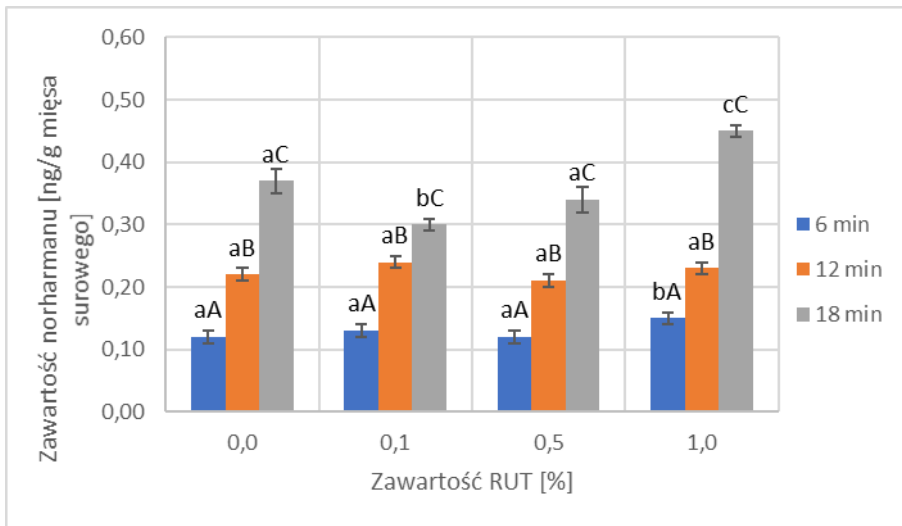
**Rysunek 5.** Zawartość MeIQx w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3



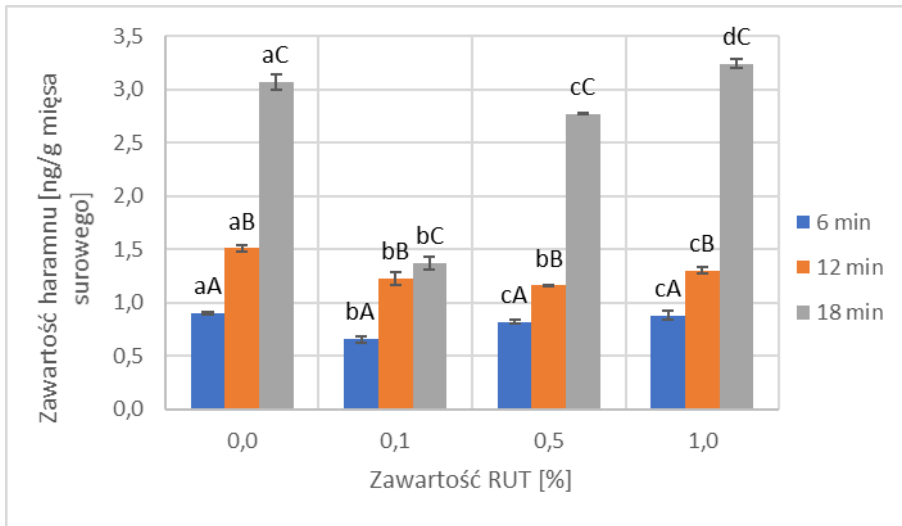
**Rysunek 6.** Zawartość Di-MelQx w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3



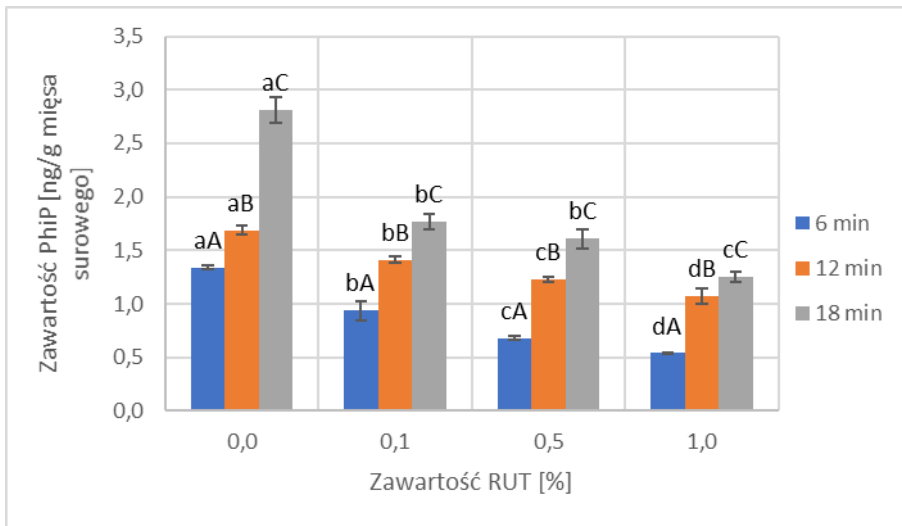
**Rysunek 7.** Zawartość norharmanu w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3



**Rysunek 8.** Zawartość harmanu w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3



**Rysunek 9.** Zawartość PhIP w przeliczeniu na zawartość w mięsie surowym (przed grillowaniem) w zależności od czasu grillowania oraz ilości dodanej rutyny (RUT)

Objaśnienia: jak na rysunku 3

#### 4. Wnioski

1. Wraz z wydłużaniem czasu grillowania mielonego mięsa wieprzowego zawartość każdego oznaczanego związku HAA, a tym samym ich suma, zwiększała się.
2. Zarówno w próbkach kontrolnych, jak i tych z dodatkiem rutyny, w największych ilościach powstawał PhIP i harman.

3. Wraz ze wzrostem ilości dodatku rutyny ilość PhIP zmniejszała się, a ilość harmanu wzrastała, nawet do ilości przekraczającej jego zawartość w próbce bez dodatku. Wyjątek stanowiły próbki grillowane przez 12 min, w których ilość dodatku nie miała większego wpływu na ilość PhIP i harmanu.
4. Zwiększanie zawartości rutyny w mięsie surowym spowodowało zmniejszenie sumy HAA w próbkach grillowanych przez 6 min. W próbkach grillowanych przez 12 min ilość rutyny nie miała wpływu na sumę HAA, a w próbkach grillowanych przez 18 min suma HAA zwiększała się wraz ze wzrostem ilości dodatku rutyny.
5. Zmniejszenie ilości powstających HAA nie było skorelowane ze zwiększaniem dodatku rutyny, a najwyższe stężenie rutyny w mięsie nie zawsze przyczyniało się do najbardziej intensywnego hamowania tworzenia się poszczególnych HAA. Zaobserwowano to szczególnie w przypadku harmanu i norharmanu, dla których dodatek rutyny na poziomie 1% skutkował ich tworzeniem nawet w większej ilości niż w mięsie bez dodatku.
6. Dodatek rutyny może zarówno ograniczać, jak i indukować powstawanie HAA.

#### Literatura

1. Alaejos M. S., Pino V., Afonso A. M. (2008). Metabolism and toxicology of heterocyclic aromatic amines when consumed in diet: Influence of the genetic susceptibility to develop human cancer. A review. *Food Research International*, 41(4), 327-340.
2. Busquets Santacana R. (2012). Food borne carcinogens: A dead end? W: Pesheva M., Dimitrov M., Stoycheva T. S., *Carcinogen*. IntechOpen, Rijeka, Croatia, 163-184.
3. Dashwood R. H. (2002). Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: An 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(2), 89-112.
4. De Andrés F., Zougagh M., Castañeda G., Ríos A. (2010). Determination of heterocyclic amines in urine samples by capillary liquid chromatography with evaporated light-scattering detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(1), 223-231.
5. Gibis M. (2016). Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: Causes, formation, occurrence, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 269-302.
6. Gibis M., Weiss J. (2010). Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. *Meat Science*, 85(4), 735-742.
7. Kondjoyan A., Chevolleau S., Grève E., Gatellier P., Santé-Lhoutellier V., Bruel S., Touzet C., Portanguen S., Debrauwer L. (2010). Formation of heterocyclic amines in slices of *Longissimus thoracis* beef muscle subjected to jets of superheated steam. *Food Chemistry*, 119(1), 19-26.
8. Majcherczyk J., Surówka K. (2015). Heterocykliczne aminy aromatyczne jako zagrożenie chemiczne w produktach mięsnych poddawanych obróbce termicznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(98), 16-34.



9. Nadeem H. R., Akhtar S., Ismail T., Sestili P., Lorenzo J. M., Ranjha M. M. A. N., Jooste L., Hano C., Aadil R. M. (2021). Heterocyclic aromatic amines in meat: Formation, isolation, risk assessment, and inhibitory effect of plant extracts. *Foods*, 10(7), 1466.
10. Puangsombat K., Gadgil P., Houser T. A., Hunt M. C., Smith J. S. (2012). Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products. *Meat Science*, 90(3), 739-746.
11. Rahman U. U., Sahar A., Ishaq A., Aadil R. M., Zahoor T., Ahmad M. H. (2018). Advanced meat preservation methods: A mini review. *J. Food Saf.*, 38(4), artykuł12467.
12. Skog K. I., Johansson M. A. E., Jägerstad M. I. (1998). Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food and Chemical Toxicology*, 36(9-10), 879-896.
13. Sugimura T., Wakabayashi K., Nakagama H., Nagao M. (2004). Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Science*, 95(4), 290-299.
14. Zheng W., Lee S-A. (2009). Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. *Nutrition and Cancer*, 61(4), 437-446.

## **Effect of rutin on the formation of heterocyclic aromatic amines in Maillard reactions**

### **Abstract**

Meat is one of the world's primary sources of food. During the thermal processing of meat, heterocyclic aromatic amines (HAAs) are formed in Maillard reactions. Heterocyclic aromatic amines are a number of compounds, some of which have been classified by International Agency for Research on Cancer (IARC) as possibly or potentially carcinogenic, including the most common: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP) and 2-amino-3,8-dimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline (MeIQx). The amount of HAA formed can be limited by the use of antioxidants, because free radicals participate in the reactions of their formation. The aim of the study was to evaluate the effect of rutin addition on HAA content in grilled pork. The applied HPLC-DAD method enabled the simultaneous determination of seven compounds (IQ, MeIQ, MeIQx, Di-MeIQx, PhIP, harmane and norharmane). Coefficients of determination  $R^2$  ranging from 0.9942 to 0.9999 were determined for the separated compounds, for the concentration range of reference substances from 0.02  $\mu\text{g/ml}$  to 5  $\mu\text{g/ml}$ . The precision expressed as CV ranged from 4.4% to 19.4% for 0.33  $\mu\text{g HAA/g}$  of meat, from 4.3% to 25.5% for 0.13  $\mu\text{g HAA/g}$  of meat and from 8.4% to 32.9% for 0.03  $\mu\text{g HAA/g}$  meat. The detection limit was similar for all HAA compounds and ranged from 0.04  $\text{ng/g}$  to 0.3  $\text{ng/g}$  of meat, and recovery from 54.8% to 115.3%. On the basis of the results it was found that the content of each determined HAA compound increased with the lengthening of the grilling time. In the control samples as well as in the samples with the addition of rutin, PhIP and harman were formed in the largest amounts. The addition of rutin significantly reduces the amount of HAA formation.

Reducing the amount of HAA formation was not correlated with increasing the amount of rutin addition, and the highest concentration of rutin in meat did not always cause the most intense inhibition of the formation of individual HAAs.

## Wpływ biofortyfikacji i dodatku prozdrowotnych surowców roślinnych na właściwości funkcjonalne napojów

Łukasz Skoczylas<sup>1\*</sup>, Anna Korus<sup>1</sup>, Mateusz Pulka<sup>2</sup>, Magdalena Pulchny<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności, Katedra Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywnienia

<sup>2</sup>FoodSector P.S.A., ul. Parkowa 27a, 32-070 Czernichów

\*Autor korespondencyjny: lukasz.skoczylas@urk.edu.pl

### Streszczenie

W niniejszej pracy omówiono napoje roślinne stanowiące żywność funkcjonalną. Z pojęciem żywności funkcjonalnej ściśle wiąże się obecność związków bioaktywnych oddziałujących przynajmniej na jedną funkcję organizmu, ponad efekt odżywczy. Wówczas napój roślinny może otrzymać status żywności funkcjonalnej. Przedstawiono sposoby na zwiększenie funkcjonalności tych napojów poprzez biofortyfikację jako jedną z metod wzbogacania surowców roślinnych w mikroelementy oraz poprzez dodatek wybranych surowców roślinnych o właściwościach prozdrowotnych. Scharakteryzowano wybrane superfoods pod względem zawartości składników biologicznie aktywnych oraz rozwój wiedzy dotyczący biofortyfikacji.

**Słowa kluczowe:** żywność funkcjonalna, napoje roślinne, biofortyfikacja, jod, superfoods

### 1. Wprowadzenie

W przeciągu obecnego dwudziestolecia obserwuje się rosnące zainteresowanie żywnością funkcjonalną oraz biofortyfikowaną, zarówno wśród konsumentów, jak i producentów. Dodatkowo coraz częściej pojawiają się deficyty witamin oraz związków mineralnych, w szczególności jodu oraz selenu w diecie człowieka (Błaszczak i Grześkiewicz 2014, Le-mańska 2011, Waszkiewicz-Robak i in. 2015). Obecny styl życia utrudnia utrzymanie zbilansowanej diety, czyli spożywania pełnowartościowych posiłków, dostarczających organizmowi niezbędnych składników w odpowiednich ilościach. Wychodząc naprzeciw potrzebom konsumentów, producenci żywności oferują produkty o wysokiej zawartości składników mineralnych oraz witamin. Produkty te mogą powstawać w drodze biofortyfikacji surowców użytych do ich produkcji, a także dzięki zastosowaniu dodatków roślinnych o właściwościach prozdrowotnych tzw. superfoods (Błaszczak i Grześkiewicz 2014). Na rynku obserwuje się wzrost sprzedaży tych produktów, przy czym konsumenci chętniej sięgają po produkty świeże, zawierające superfoods, a także napoje typu smoothie, które stanowią zdrową alternatywę dla przekąsek.

Celem przeglądu literatury było zwrócenie uwagi na potencjał wykorzystania surowców biofortyfikowanych, a także roślin zielonych w produkcji żywności o zwiększonej funkcjonalności.

## **2. Charakterystyka żywności funkcjonalnej – napojów bezalkoholowych**

Żywność funkcjonalna to grupa produktów spożywczych, pochodzenia naturalnego, która spełnia określone funkcje w organizmie człowieka. Według raportu FUFOS (Functional Food Science in Europe), przyjętego w 1999 roku, żywność może zostać uznana za funkcjonalną wówczas, gdy udowodniono jej korzystny wpływ na przynajmniej jedną funkcję organizmu, ponad efekt odżywczy. Wpływ ten ma polegać na poprawie samopoczucia oraz stanu zdrowia, a także na zmniejszaniu ryzyka chorób (Diplock 1999). Warunkiem prawidłowego oddziaływania i skuteczności takiego produktu na zdrowie jest spożywanie go zgodnie z zaleceniami producenta, dotyczącymi ilości i regularności spożywania. Funkcjonalność produktów musi być potwierdzona w badaniach klinicznych, których wyniki będą stanowić dowód na znaczący i korzystny wpływ na organizm człowieka (Mironiuk 2018).

Żywność funkcjonalną określa się również pojęciem żywności projektowanej do zaspokojenia określonych potrzeb organizmu. Do kierunków oddziaływania takiej żywności w zakresie poprawy stanu fizycznego oraz psychicznego konsumenta można zaliczyć m.in.:

- hamowanie procesów degeneracyjnych w ustroju wywołanymi działaniem wolnych rodników,
- poprawę nastroju,
- zwiększenie wydolności organizmu,
- podaż składników odżywczych w czasie zwiększonego zapotrzebowania na nie, np. podczas intensywnego wysiłku, okresu rekonwalescencji, ciąży.

Napoje bezalkoholowe to szeroka gama produktów obecnych i łatwo dostępnych na rynku spożywczym, począwszy od wody butelkowej, przez soki, nektary, napoje owocowe, gazowane i niegazowane, a skończywszy na napojach energetycznych, izotonicznych, witaminowych czy smoothie (Banach 2017). Na specjalną uwagę zasługują napoje roślinne, które mogą być dobrymi nośnikami składników funkcjonalnych. Wśród nich znajdują się napoje owocowe i warzywne, które dzięki dodatkowi wybranych surowców bogatych w składniki mineralne, witaminy, oligosacharydy, białka, przeciwutleniacze czy probiotyki, zyskują status żywności funkcjonalnej (Świdorski i Kolanowski 2018, Świącicki i in. 2011).

Produkcja tradycyjnych funkcjonalnych napojów roślinnych odbywa się z zastosowaniem surowców pochodzących ze specjalnych upraw, prowadzonych w specyficznych warunkach (np. środowiskowych) lub ze specjalnie wyselekcjonowanych odmian, z możliwością stosowania odmian modyfikowanych biotechnologicznie. Przeprowadzenie takich operacji ma na celu optymalizację upraw, zredukowanie składników niepożądanych oraz zwiększenie ilości składników cennych dla organizmu m.in. składników mineralnych (Świdorski i Kolanowski 2018, Waszkiewicz-Robak i in. 2015).

## **3. Biofortyfikacja jako metoda zwiększenia funkcjonalności napojów roślinnych**

Współcześnie nowoczesne rolnictwo obejmuje produkcję bezpiecznej żywności. Dotychczas producenci koncentrowali się na zwiększeniu plonów poprzez tworzenie odmian

roślin bardziej plennych, jednakże w ostatniej dekadzie na pierwszy plan wysuwa się zwiększenie podaży mikroelementów, ze względu na ich deficytowe dostarczanie z dietą stosowaną przez około połowę populacji ludności (Święcicki i in. 2011, Zhao i McGrath 2009). Sposobem na rozwiązanie powyższego problemu może być produkcja napojów roślinnych zawierających w składzie surowiec biofortyfikowany (Skoczylas i in. 2018).

Biofortyfikacja to proces mający na celu zwiększenie wartości biologicznej plonów, a przez to również produktu końcowego. W konsekwencji przyczynia się to do poprawy zdrowia konsumenta. Żywność uzupełnia się o składniki, które w diecie człowieka występują w małych ilościach. Należą do nich biodostępne składniki pokarmowe takie jak: cynk, jod, selen, żelazo, magnez, miedź oraz wapń (Puła 2017). Wzbogacenie roślin w wybrany składnik mineralny może odbywać się poprzez: praktyki agronomiczne (odpowiednie nawozy i nawożenie), selektywną uprawę roślin bądź techniki transgeniczne (Bouis i Saltzman 2017). Najbardziej rozpowszechnioną formą biofortyfikacji jest dolistna lub dorkzeniowa aplikacja wybranych składników (Skoczylas i in. 2018). Jednym z podstawowych pierwiastków, którego dotyczą badania nad biofortyfikacją, jest jod (ze względu na znaczący jego niedobór w diecie człowieka). Do roślin, które tolerują wzbogacanie jodem należy marchew, pomidor, sałata, szpinak, bakłażan, ziemniaki oraz ziarna zbóż, a głównie owies i ryż (Puła 2017). Przydatność technologiczna marchwi oraz pomidora stanowi przykład zastosowania surowca wzbogaconego w jod do produkcji funkcjonalnych napojów bezalkoholowych (Skoczylas 2016, Skoczylas 2020).

Głównym problemem związanym z brakiem biofortyfikowanych surowców i produktów na rynku jest brak przekonania rolników do stosowania tego zabiegu, a konsumentów do zaakceptowania wzbogaconych surowców i gotowych produktów (Siddiqui i Jha 2021).

### **3.1. Potencjał wykorzystania surowców biofortyfikowanych**

Jednym z mikrośladników, którego niska podaż z pożywieniem jest najczęstsza, jest jod. Pierwiastek ten jest konieczny do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, a jego niedobór w organizmie stanowi poważny problem. Pierwiastek ten bierze udział w biosyntezie hormonów tarczycy (w której nagromadzona jest jego największa ilość) – tyroksyny ( $T_4$ ) i trójdotyroniny ( $T_3$ ) (Gołkowski 2010), odpowiedzialnych za prawidłowe funkcjonowanie układów krążenia oraz nerwowego. Hormony te wpływają również istotnie na przemiany metaboliczne ustroju, na gospodarkę wodno-elektrolitową, a także wapniowo–fosforanową oraz biorą udział w metabolizmie podstawowych składników odżywczych jakimi są: białka, węglowodany i tłuszcze (Karpińska i in. 2007). Ważne jest więc spożywanie produktów bogatych w jod, aby zapobiec wystąpieniu chorób wynikających ze zbyt niskiego stężenia lub braku tego mikroelementu w organizmie. Rekomendacje Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) co do optymalnego dziennego spożycia jodków są uzależnione od wieku i stanu fizjologicznego organizmu (np. ciąża) i wahają się od 50  $\mu\text{g}$  do 250  $\mu\text{g}$ , przy czym dzienne zapotrzebowanie dla osoby dorosłej wynosi 150  $\mu\text{g}$  (Krzeptliński i in. 2019). W Polsce profilaktyka zaburzeń wynikających z niedoboru jodu opiera się na uniwersalnym jodowaniu soli kuchennej. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleca

jednak, aby dzienne spożycie soli nie przekraczało 5 g na dobę, ze względu na prewencję chorób sercowo-naczyniowych (Pyka i in. 2019). W 100 g soli kuchennej znajduje się przeciętnie 2293  $\mu\text{g}$  jodu, co w przeliczeniu na dzienne spożycie daje ok. 115  $\mu\text{g}$  (Pyka i in. 2019). Nie jest to zatem ilość jodu, która uzupełniłaby dzienne zapotrzebowanie. Ponadto wartości te nie uwzględniają strat jodu w trakcie przechowywania soli lub stosowania jej np. do gotowania potraw, a są one znaczne. Aby nie przekroczyć spożycia dziennej dawki soli oraz uzupełnić dzienne zapotrzebowanie na jod konieczne są działania zmierzające do zwiększenia podaży jodu wraz z naturalnymi nośnikami. Jedną z możliwości jest zwiększenie zawartości jodu w wybranych warzywach poprzez wspomnianą biofortyfikację (Pyka i in. 2019). Skuteczność biofortyfikacji zależy nie tylko od sposobu i formy dostarczonego roślinie pierwiastka, ale przede wszystkim gatunku rośliny. W związku z tym możliwość wykorzystania warzyw jest różna. Na podstawie dostępnych danych literaturowych można stwierdzić, że 100 g świeżej biofortyfikowanej marchwi może zaspokoić dzienne zapotrzebowanie na jod w około 30-40% (Smoleń i in. 2015). Warzywa liściowe mogą gromadzić znacznie większe ilości tego mikroelementu. Przykładowo, spożycie zaledwie 1 g suszonego biofortyfikowanego szpinaku może zaspokoić zapotrzebowanie organizmu na jod w ilości równoważnej 100% zalecanego spożycia (RDA) (Smoleń i in. 2019).

#### 4. Rośliny zielone o właściwościach prozdrowotnych

Obecnie konsumenci coraz częściej są świadomi znaczenia właściwej diety, dlatego biorą pod uwagę skład i wartość odżywczą produktów. Z roku na rok obserwuje się wzrost popularności nowych trendów żywieniowych, do których należy „superfood”, w polskim tłumaczeniu „superżywność” (Banach i in. 2017, Wojciechowska i in. 2019). Aktualnie nie ma oficjalnej, jednolitej definicji superfoods, jednak pojęcie to kojarzone jest z produktami bogatymi w składniki odżywcze, w których występują one w wysokim stężeniu oraz mają dużą wartość biologiczną (Proestos 2018).

Według jednej z definicji za „superżywność” uznaje się naturalne produkty żywnościowe, które posiadają unikalną wartość odżywczą, a także składniki oddziałujące korzystnie na zdrowie człowieka: witaminy, składniki mineralne, bioaktywne peptydy, enzymy, fitozwiązki oraz inne związki wpływające pozytywnie na jednostki chorobowe (Banach i in. 2017, Nagai i Inoue 2004).

Rośliny zielone stanowiące żywność o właściwościach prozdrowotnych są stosowane w diecie w celu uzupełnienia jej o składniki mineralne, białka czy witaminy. Do najpopularniejszych roślin zielonych należą jarmuż, trawa pszeniczna, trawa jęczmienna, czystek, siewki lniane, chia, jagody acai, korzeń maca, herbata zielona i zioła oraz algi morskie, w tym spirulina i chlorella (Karkowska i in. 2020, Proestos 2018). Ze względu na szeroki asortyment zielonej „superżywności”, poniżej przedstawiono wybrane surowce.

##### 4.1. Spirulina

*Spirulina* spp. są wielokomórkowymi, nitkowatymi sinicami. Spirulina to wysuszona biomasa *Arthrospira platensis*, sinicy planktonicznej. Tworzy masywne populacje w

tropikalnych oraz subtropikalnych zbiornikach wodnych, cechuje się charakterystyczną zielono – niebieską barwą (Beheshtipour i in. 2013, Belay 1997). Jest bogata w białko stanowiące 60-70% suchej masy, będące kompletnym źródłem egzogennych aminokwasów w tym leucyny, waliny oraz izoleucyny (Beheshtipour i in. 1997, Diplock 1999, Karkowska i in. 2020]. Spirulina zawiera 7-16% lipidów w suchej masie, kwasy tłuszczowe omega-3 oraz omega-6, a także błonnik pokarmowy stanowiący 8-10% suchej masy. Jest dobrym źródłem witaminy A, witamin z grupy B, C i E, składników mineralnych, w tym Fe, Ca, Mg, Mn, P, Na, Zn, K, a także chlorofilu oraz karotenoidów (Gumiela i in. 2013, Yang in. 2016).

#### 4.2. Jarmuż

Jarmuż (*Brassica oleracea* L.) jest jednym z najstarszych zielonych i liściastych warzyw kapustnych. Gatunek ten uprawiany jest głównie w Europie w rejonie Morza Śródziemnego. Może być spożywany w postaci świeżej, po obróbce technologicznej bądź w formie sproszkowanej, jako dodatek do żywności (Poveda i in. 2020, Thavarajak i in. 2019). W badaniach przeprowadzonych przez Thavarajak i in. (2019), autorzy wykazali, że jarmuż jest pełnowartościowym źródłem składników mineralnych niezbędnych dla organizmu, m.in. Ca, Mg, P, Cu, Mn, Se, Fe (Thavarajak i in. 2019). Jarmuż zasobny jest w kwas foliowy, niacynę, witaminy A, B oraz C, karotenoidy i chlorofil (Kunachowicz i in. 2012).

#### 4.3. Młody jęczmień

Jęczmień zwyczajny (*Hordeum vulgare* L.) jest jednoroczną rośliną uprawną, natomiast terminem „młody jęczmień” nazywa się sadzonki jęczmienia, które wzrastają do wysokości ok. 20-30 cm, w okresie ok. 200 godzin. Młode liście jęczmienia stanowią istotne źródło aminokwasów egzogennych oraz endogennych, witaminy A, witamin z grupy B, witamin C, E, K, pierwiastków, m.in. Se, Zn, P, K, Na, Mn, Mg, a także kwasów tłuszczowych – lino- lenowego i linolowego (Brezinová Belcredi i in. 2010, Kawka i Lemieszek 2017, Yang i in. 2016). Jest również bogaty w karotenoidy, chlorofil oraz flawonoidy (Kawka i Lemieszek 2017, Yang i in. 2016).

Rośliny zielone, w tym młody jęczmień, jarmuż oraz spirulina, stanowią dobre źródło składników mineralnych, kwasów tłuszczowych oraz związków bioaktywnych, do których należą flawonoidy, witaminy, karotenoidy, chlorofile. Związki te wykazują właściwości antyoksydacyjne, co jest wykorzystywane w profilaktyce przeciwnowotworowej, a także w profilaktyce chorób sercowo–naczyniowych (Kawka i Lemieszek 2017). Dotychczas udokumentowano związek między dietą a zdrowiem człowieka, zatem uzasadniona jest produkcja napojów funkcjonalnych, z wykorzystaniem wymienionych wyżej roślin zielonych, zawierających składniki bioaktywne o korzystnym wpływie na funkcjonowanie organizmu (Troszyńska i in. 2000, Yang i in. 2016).

### 5. Podsumowanie

Od kilku dekad obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów żywnością o charakterze prozdrowotnym. Zwracają oni uwagę na skład produktu oraz na pozytywny wpływ zawartych w produkcie składników na organizm. Producenci żywności starają się

sprostać temu wyzwaniu i oferują produkty bogate w składniki odżywcze i bioaktywne oraz opracowują metody umożliwiające zwiększenie prozdrowotności produktów, które w konsekwencji mogą mieć status żywności funkcjonalnej. Ciekawym rozwiązaniem technologicznym może być zastosowanie surowców biofortyfikowanych oraz zielonych roślin o właściwościach prozdrowotnych do produkcji funkcjonalnych napojów bezalkoholowych. Spożywanie takich produktów może być jednym ze sposobów dostarczania organizmowi składników mineralnych. Jednocześnie produkty te, ze względu na wysoką aktywność antyoksydacyjną, mogą odgrywać rolę w profilaktyce chorób nowotworowych, a także sercowo-naczyniowych.

### Literatura

1. Banach K., Rutkowska B., Glibowski P. (2017). Polska „superżywność” w prewencji chorób nowotworowych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2, 106-114.
2. Beheshtipour H., Mortazavian A.M., Mohammadi R., Sohrabvandi S., Khosravi-Daran K. (2013). Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* Algae into probiotic fermented milks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 144-154.
3. Belay A. (1997). Mass culture of *Spirulina* outdoors. The Earthrise Farms experience. W: Vonshak A. (red.), *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell biology and biotechnology*. Taylor and Francis, London, 1–15.
4. Błaszczak A., Grzeškiewicz W. (2014). Żywność funkcjonalna – szansa czy zagrożenie dla zdrowia? *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu*, 20(2), 214-221.
5. Bouis E. H., Saltzman A. (2016). Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from Harvest Plus, 2003 through 2016. *Global Food Security*, 12, 49-58.
6. Brezinová Belcredi N., Ehrenbergerová J., Fiedlerová V., Běláková S., Vaculová K. (2010). Antioxidant vitamins in barley green biomass. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58(22), 11755–11761.
7. Cohen Z. (1997). The chemicals of *Spirulina*. W: Vonshak A. (red.), *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor and Francis, London.
8. Diplock A.T. (1999) Scientific concepts of functional foods in Europe-consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81, 1–27.
9. Gołkowski F. (2010). Jod – pierwiastek istotny w profilaktyce, diagnostyce i leczeniu. W: Dębska G. Jaśkiewicz J. (red.). *Interdyscyplinarne aspekty nauk o zdrowiu*. Krakowskie Towarzystwo Edukacyjne sp. z o.o. – Oficyna Wydawnicza AFM, Kraków, 81-93.
10. Gumieła E., Szulińska M., Bogdański P. (2013). Wpływ suplementacji spiruliny na wybrane parametry antropometryczne i biochemiczne. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 4(4), 199-209.
11. Karkowska K., Skotnicka M., Pieszko M. (2020). Substancje bioaktywne występujące w „zielonych” suplementach diety. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 129-136.



12. Karpińska J., Kryształowicz B., Błachowicz A., Franek E. (2007). Pierwotne, wtórne i jatrogenne zaburzenia czynności tarczycy. *Choroby serca i naczyń*, 4(1), 48-53.
13. Kawka K., Lemieszek M.K. (2017). Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B. (2012). Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw, wyd. VI. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
14. Prozdrowotne właściwości młodego jęczmienia. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu*, 23(1), 7-12.
15. Krzepińko A., Prażak R., Skwaryło-Bednarz B., Molas J. (2019). Agronomic biofortification as a means of enriching plant foodstuffs with iodine. *Acta Agrobotanica*, 72(2), 1766-1775.
16. Lemańska K. (2011). Nowe trendy w projektowaniu żywności funkcjonalnej. W: Mruk H., Nestorowicz R. (red.). *Uwarunkowania sprawności innowacyjnej przedsiębiorstw*, Wyd. Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, Poznań, 84-90.
17. Mironiuk K. (2018). Żywność funkcjonalna – wyzwanie dla konsumenta, szansa dla producenta. *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 20(5), 112-118.
18. Nagai T., Inoue R. (2004). Preparation and functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry*, 84, 181-186.
19. Poveda J., Zabalgoceazcoa I., Soengas P., Rodriguez V. M., Cartea M. E., Abilleira R., Velasco P. (2020). *Brassica oleracea* var. *acephala* (kale) improvement by biological activity of root endophytic fungi. *Scientific Reports*, 10, 20224.
20. Proestos C. (2018). Superfoods: recent data on their role in the prevention of diseases. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 6(3), 576-593.
21. Puła J. (2017). Biofortyfikacja jodem – sposób na zdrowszą żywność. Pobrano z: <https://www.rolnikuj.pl/blog/biofortyfikacja-jodem-sposob-na-zdrowsza-zywnosc>. Dostęp 10.08.2021.
22. Pyka B., Zieleń-Zynek I., Kowalska J., Ziółkowski G., Hudzik B., Gąsior M., Zubelewicz - Szkodzińska B. (2019). Zalecenia dietetyczne dotyczące spożywania jodu - w poszukiwaniu konsensusu między kardiologami a endokrynologami. *Folia Cardiologica*, 14(2), 156-160.
23. Ramamoorthy A., Premakumari S. (1996). Effect of supplementation of spirulina on hypercholesterolemic patients. *Journal of Food Science and Technology*, 33(2), 124-128.
24. Siddiqui N., Jha S. (2021). Biofortification: a sustainable strategy for improving nutrition in humans. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 42(13), 1-10.
25. Skoczylas Ł., Tabaszewska M., Smoleń S., Słupski J., Korus A., Gębczyński P., Liszka-Skoczylas M. (2016). Nietypowe surowce do produkcji soków. *Przemysł Spożywczy*, 70(11), 40-44.
26. Skoczylas Ł., Tabaszewska M., Smoleń S., Słupski J., Liszka-Skoczylas M., Barański R. (2020). Carrots (*Daucus carota* L.) biofortified with iodine and selenium as a raw

- material for the production of juice with additional nutritional functions. *Agronomy*, 10, 1360.
27. Skoczyła Ł., Liszka-Skoczyła M., Żmudziński D., Rudnik D. (2018). Biofortyfikacja roślin uprawnych jako metoda walki z deficytem składników mineralnych w diecie człowieka. W: Tarko T., Drożdż I., Słupski J. (red.). Składniki bioaktywne surowców i produktów roślinnych. Wyd. Oddział Małopolski PTTŻ, Kraków, s. 58-65.
28. Smoleń S., Barański R., Ledwożyw-Smoleń I., Skoczyła Ł., Sady W. (2019). Combined biofortification of carrot with iodine and selenium. *Food Chemistry*, 300, 125202.
29. Smoleń S., Ledwożyw-Smoleń I., Sady W. (2015). The role of exogenous humic and fulvic acids in iodine biofortification in spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant and Soil*, 402, 129-143.
30. Soni R., Sudhakar K., Rana R.S. (2017). Spirulina – from growth to nutritional product: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 157-171.
31. Świdorski F., Kolanowski (2018). Żywność funkcjonalna i dietetyczna. W: Świdorski F. (red.). Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, s. 28-35.
32. Świąteczki W.K., Surma M., Koziara W., Skrzypczak G., Szukała J., Bartkowiak-Broda I., Zimny J., Banaszak Z., Marciniak K. (2011). Nowoczesne technologie w produkcji roślinnej – przyjazne dla człowieka i środowiska. *Polish Journal of Agronomy*, 7, 102-112.
33. Thavarajak D., Siva N., Johnson N., McGee R., Thavarajak P. (2019). Effect of covercrops on the yield and nutrient concentration of organic kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Scientific Reports*, 9(1), 10374.
34. Troszyńska A., Honke J., Kozłowska H. (2000). Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej. *Postępy Fitoterapii*, 2, 1-4.
35. Waszkiewicz-Robak B., Kulik K., Bazarnik M. (2015). Żywność funkcjonalna szansą rozwoju nauki o żywności i żywieniu oraz zapewnienia bezpieczeństwa żywności. W: Karwowska M., Gustaw W. (red.). *Trendy w żywieniu człowieka*. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków, s. 355-366.
36. Wojciechowska M., Grzegorzczak-Karolak I. (2019). Owoce acai – potencjał terapeutyczny bazujący na profilu fitochemicznym surowca i współczesnych badaniach farmakologicznych. *Farmacja Polska*, 75(3), 134-147.
37. Yang J., Zeng Y., Yang X., Pu X., Du J. (2016). Utilization of barley functional foods for preventing chronic diseases in China. *Journal of Agriculture, Science and Technology*, 17(9), 2195-2204.
38. Zhao F.-J., McGrath S.P. (2009). Biofortification and phytoremediation. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 373-380.

## **Effect of vegetable biofortification and addition of pro-health raw materials on the functional properties of beverages**

### **Abstract**

This paper discusses plant drinks as functional food. The concept of functional food is closely related to the presence of bioactive compounds affecting at least one function of the body, beyond the nutritional effect, then a plant drink can obtain the status of a functional food. Presented, ways to increase the functionality of these beverages by using biofortification as one of the methods of enriching plant materials with those micronutrients that are most often missing in the human diet and selected plant additives with pro-health properties. Characterized selected superfood in terms of the presence of biologically active ingredients and discussed the current state of knowledge regarding biofortification.

## Kwiaty jadalne jako dodatek do produktów o charakterze deserów

Joanna Sobolewska-Zielińska\*, Dorota Gałkowska, Natalia Patla, Karolina Gąsior

*Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,  
Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności*

\*Autor korespondencyjny: joanna.sobolewska-zielinska@urk.edu.pl

### Streszczenie

Celem pracy było wytworzenie produktów o charakterze deserów z dodatkiem zliofilizowanych i rozdrobnionych płatków kwiatów jadanych: nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.), chabra bławatka (*Centaurea cyanus* L.) oraz róży stulistnej (*Rosa centifolia*). Desery powstały na bazie następujących produktów spożywczych: jogurtu naturalnego, galaretki bezbarwnej o smaku truskawkowo-waniliowym oraz kremu tortowego wytworzonego z sera mascarpone i śmietanki 30%, z dodatkiem cukru pudru.

Spośród badanych dodatków kwiatowych największą aktywnością antyoksydacyjną oraz najwyższą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się płatki róży stulistnej. Z kolei najwyższą zawartość monomerycznych antocyjanów stwierdzono w płatkach chabra bławatka. Dodatek suszu z płatków kwiatów do wyżej wymienionych produktów wpłynął na zmianę barwy otrzymanych deserów. Ponadto, suszone kwiaty nadały wyrobom gorzkość i cierpkość. Na podstawie wyników analizy sensorycznej przeprowadzonej metodą szeregowania stwierdzono, że najbardziej preferowane były produkty z dodatkiem rozdrobnionych płatków nagietka lekarskiego.

**Słowa kluczowe:** analiza sensoryczna, barwa, desery, kwiaty jadalne, właściwości przeciwutleniające

### 1. Wprowadzenie

Współcześni konsumenci coraz częściej rezygnują z żywności wysoko przetworzonej na rzecz produktów zasobnych w naturalne związki bioaktywne. Jednym z innowacyjnych, naturalnych źródeł takich związków, a więc kwasów fenolowych, flawonoidów, w tym antocyjanów, a także związków terpenowych, witamin i związków mineralnych są kwiaty jadalne. Uzupełnienie diety w produkty zawierające te surowce roślinne może zatem przynosić liczne korzyści zdrowotne (Hegde i in. 2022, Śmiechowska 2018, Zheng i in. 2021). Wykorzystanie kwiatów jadalnych w produkcji żywności nie jest zjawiskiem nowym, jednak obecnie zwraca się uwagę nie tylko na ich walory zapachowe i na atrakcyjność wizualną, ale również na wartości odżywczą i prozdrowotną (Kalemba-Drożdż 2022). Surowce te, najczęściej w formie wysuszonej, są szeroko stosowane jako składniki lub dodatki do herbat czarnych, zielonych, herbatek czy mieszanek ziołowych, a także wykorzystywane są w przemyśle cukierniczym, np. w glazurach cukierniczych lub czekoladowych. Znacznie mniej popularne jest wykorzystanie kwiatów jadalnych w produktach nietrwałych. W świetle powyższego, celem niniejszej pracy było wytworzenie produktów stanowiących

desery, z dodatkiem liofilizowanych i rozdrobnionych płatków kwiatów jadalnych: nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.), chabra bławatka (*Centaurea cyanus* L.) oraz róży stulistnej (*Rosa centifolia*). Desery sporządzono na bazie następujących wyrobów spożywczych: jogurtu naturalnego, galaretki bezbarwnej o smaku truskawkowo-waniliowym oraz kremu tortowego z sera mascarpone i śmietanki 30%, z dodatkiem cukru pudru. Surowce kwiatowe scharakteryzowano pod względem właściwości przeciwutleniających, a desery uzyskane z ich udziałem poddano analizie sensorycznej oraz ocenie barwy techniką instrumentalną.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał badany

Materiał do badań stanowiły płatki kwiatów jadalnych: nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.), chabra bławatka (*Centaurea cyanus* L.) oraz róży stulistnej (*Rosa centifolia*). Nasiona nagietka lekarskiego i chabra bławatka (pochodzące z przedsiębiorstwa hodowlano-nasienniczego Sp. z o.o. W. Legutko) zostały wysiane w podłożu uniwersalnym, a następnie rozsadzone w przydomowym ogródku. Wzrost roślin następował bez nawożenia, w miejscu zlokalizowanym z dala od tras komunikacyjnych. Kwiaty róży stulistnej pozyskano z przydomowego siedmioletniego krzewu. Wszystkie kwiaty zostały zebrane w pełnej fazie kwitnienia, na przełomie lipca i sierpnia 2022 r. Po zbiorze płatki korony kwiatów zostały zamrożone w zamrażarce szokowej (-20 °C/1,5 h) i wysuszone sublimacyjnie w liofilizatorze (Gamma 1-16 LSC, Christ, Niemcy). Po suszeniu płatki kwiatów zostały rozdrobnione w porcelanowym moździerzu. Jedną część suszu kwiatowego przeznaczono do sporządzenia ekstraktów, natomiast drugą część wykorzystano do przygotowania produktów o charakterze deserów. Były nimi desery na bazie: jogurtu naturalnego (Zott Polska Sp. z o.o.; 500 g jogurtu zmieszano z 4 g suszu kwiatowego); galaretki bezbarwnej o smaku truskawkowo-waniliowym (Dr. Oetker Polska Sp. z o.o.; galaretkę rozpuszczono w 500 cm<sup>3</sup> wrzącej wody, a po ostudzeniu, ale przed zatężeniem, dodano 4 g suszu kwiatowego); kremu tortowego z sera mascarpone (Sottile Gusto, Jeronimo Martins Polska S.A.) i śmietanki 30% (łaciata UHT, Mlekpól), z dodatkiem cukru pudru (Diamant, Cukrownia Środa, Środa Wlkp.; 250 cm<sup>3</sup> śmietanki ubito mikserem, dodano 10 g cukru pudru, 250 g sera mascarpone i 4 g suszu kwiatowego). W tabelach zamieszczonych w tekście pracy przyjęto następujące symbole stosowane w opisie deserów: J – jogurt, G – galaretka, K – krem tortowy, 0 – brak dodatku suszu kwiatowego, NL – dodatek suszu z płatków nagietka lekarskiego, ChB – dodatek suszu z płatków chabra bławatka, RS – dodatek suszu z płatków róży stulistnej. Przykładowo: G-NL oznacza galaretkę z dodatkiem suszu z płatków nagietka lekarskiego.

## 2.2. Metody badań

### 2.2.1. Sporządzanie ekstraktów z płatków kwiatów

Przed przystąpieniem do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej, całkowitej zawartości związków fenolowych oraz całkowitej zawartości antocyjanów w płatkach kwiatów jadalnych, sporządzono ekstrakty metanolowe z poszczególnych suszy kwiatowych.

W tym celu 1,5 g suszu kwiatowego zalano 20 cm<sup>3</sup> roztworu ekstrahującego (80% roztwór metanolu zakwaszony 85% kwasem mrówkowym do pH 2). Mieszaninę poddano działaniu ultradźwięków w łaźni ultradźwiękowej (Sonic-5, Polsonic Palczyński Sp. J., Warszawa) przez 20 minut. Otrzymany ekstrakt zdekantowano i przeniesiono do czystego naczynia, a osad poddano kolejnej ekstrakcji w sposób opisany powyżej. Procedurę ekstrakcji powtórzono trzeci raz. Wszystkie trzy porcje ekstraktu połączono, a następnie zatężono w wyparce próżniowej (RVO 200 A, INGOS s.r.o., Czechy) w temperaturze 40 °C. Zatężony ekstrakt przeniesiono ilościowo, przy użyciu ww. roztworu ekstrahującego, do kolby miarowej o poj. 10 cm<sup>3</sup> i kolbę uzupełniono do kreski. Tak przygotowany ekstrakt przechowywano w temperaturze -18 °C do czasu analizy.

### 2.2.2. Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej płatków kwiatów

Aktywność przeciwutleniającą związków zawartych w płatkach kwiatów wobec rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oznaczono metodą spektrofotometryczną (V-630, Jasco, Japonia) wg procedury opisanej przez Gałkowską i in. (2022). Aktywność przeciwutleniająca została wyrażona w mg Troloxu na 1 g zliofilizowanych płatków kwiatów (mg Troloxu/1 g).

### 2.2.3. Oznaczanie całkowitej zawartości związków fenolowych w płatkach kwiatów

Oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych w płatkach kwiatów przeprowadzono metodą spektrofotometryczną (V-630, Jasco, Japonia), z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, wg metodyki Meda i in. (2005). Zawartość związków fenolowych wyrażono w mg ekwiwalentu kwasu galusowego zawartego w 1 g zliofilizowanych płatków kwiatów (mg GAE/1 g).

### 2.2.4. Oznaczanie całkowitej zawartości antocyjanów w płatkach kwiatów

Całkowitą zawartość monomerycznych antocyjanów oznaczono metodą różnicowania pH, opisaną przez Loizzo i in. (2016) i wyrażono w µg cyjanidyno-3-glukozydu zawartego w 1 g zliofilizowanych płatków kwiatów (µg Cy3G/1 g).

### 2.2.5. Oznaczanie barwy deserów

Dokonano instrumentalnego pomiaru barwy deserów przy użyciu spektrofotometru laboratoryjnego Color i5 (X-Rite, Incorporated; USA), z zastosowaniem systemu CIELab. Badanie przeprowadzono w świetle odbitym, stosując źródło światła D65, geometrię pomiaru d/8 i obserwator 10°. Wyznaczono parametr L\* charakteryzujący jasność oraz parametry a\* i b\* charakteryzujące chromatyczność. Obliczono również różnicę barw ( $\Delta E^*$ )

między barwą danego produktu wyjściowego a barwą deseru z dodatkiem suszu kwiatowego, korzystając z wzoru:  $\Delta E^* = \sqrt{(L^*_0 - L^*)^2 + (a^*_0 - a^*)^2 + (b^*_0 - b^*)^2}$ .

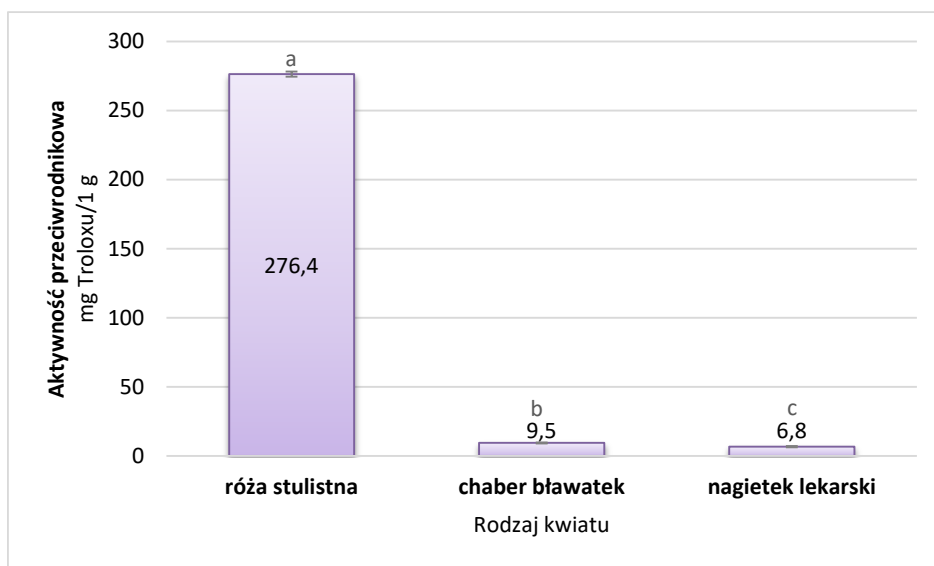
Interpretując wielkość różnicy barw przyjęto następujące kryteria (Chudy i in. 2016):  $\Delta E^* = 0-1$  – różnica niewidoczna,  $\Delta E^* = 1-2$  – różnica niewielka, rozpoznawalna jedynie przez osobę doświadczoną w odróżnianiu niuansów barw,  $\Delta E^* = 2-3,5$  – różnica rozpoznawalna nawet przez osobę niedoświadczoną w odróżnianiu barw,  $\Delta E^* = 3,5-5$  – różnica wyraźna,  $\Delta E^* > 5$  – różnica bardzo wyraźna.

### 2.2.6. Analiza sensoryczna deserów

Analiza sensoryczna deserów została przeprowadzona przez przeszkolony, 16-osobowy zespół oceniający (PN–ISO 3972:1998, PN–ISO 5496:1997) w laboratorium sensorycznym Katedry Analizy i Oceny Jakości Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie (PN-EN ISO 8589:2010). Analizy przeprowadzono metodami skalowania i szeregowania. W pierwszej z nich zastosowano skalę strukturowaną dwukierunkową (z następującymi brzegowymi poziomami intensywności wrażenia: 1 – zbyt nieintensywne, 5 – zbyt intensywne). Oceniano barwę, nutę zapachową kwiatową, wyczuwalność cząstek, nutę smaczkową kwiatową, smak gorzki, smak kwaśny, smak słodki oraz cierpkość. Ocenę metodą szeregowania przeprowadzono zgodnie z normą PN-ISO 4121:1998. Szeregowano próbki w obrębie danego deseru z dodatkiem różnych płatków kwiatów, ze względu na stopień pożądalności: poziom I oznaczał produkt najbardziej pożądanym, a poziom III – najmniej pożądanym. Stosując test Friedmana na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  określono, czy występują statystycznie istotne różnice między próbkami w stopniu pożądalności.

## 3. Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń aktywności przeciwutleniającej wobec rodnika DPPH zestawiono na rysunku 1. Suszone płatki róży stulistnej odznaczały się ponad 40-krotnie lub niemal 3- do 10-krotnie wyższą aktywnością przeciwutleniającą niż suszone płatki, odpowiednio, nagietka lekarskiego i chabra bławatka. Za omawianą właściwość badanych surowców odpowiadają zawarte w nich związki biologicznie czynne: flawonoidy, glikozydy, taniny, witamina C, związki terpenowe, karotenoidy czy wielonienasycone kwasy tłuszczowe (dos Santos i in. 2018, Kalisz i in. 2023, Koczka i in. 2018, Lockowandt i in. 2019, Marian i in. 2017, Nurzyńska-Wierdak i in. 2014).



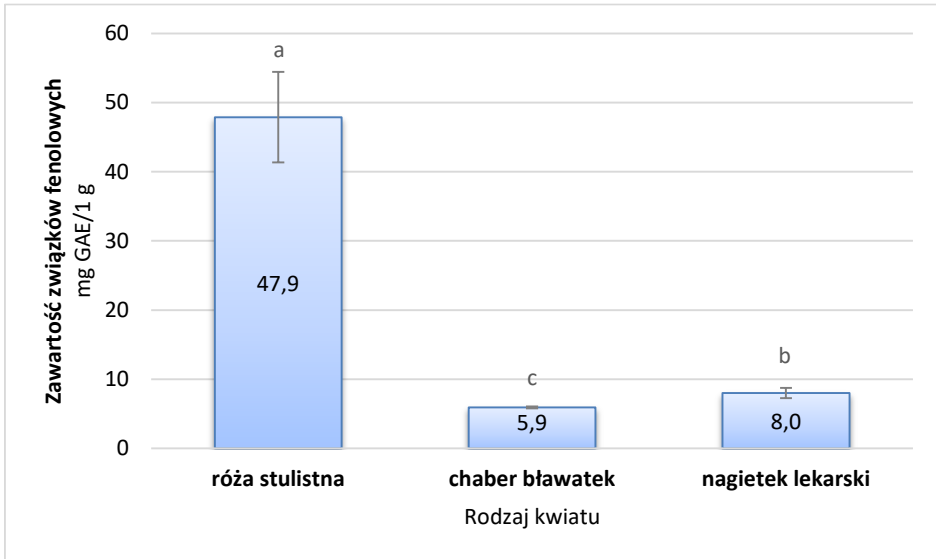
**Rysunek 1.** Aktywność przeciwutleniająca suszonych płatków kwiatów

Objaśnienia: a, b, c - wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Wyniki oznaczeń całkowitej zawartości związków fenolowych w suszach kwiatowych (rys. 2) są zgodne z rezultatami pomiarów aktywność przeciwutleniającej. Najwyższą zawartością związków fenolowych, wynoszącą niemal 48 mg GAE/1 g, charakteryzowały się płatki róży stulistnej. Płatki chabra bławatka oraz nagietka lekarskiego okazały się znacznie uboższe w omawiane składniki. Zawartość omawianych wtórnych metabolitów oznaczona w płatkach róży jest zgodna z danymi literaturowymi: całkowita zawartość związków fenolowych oznaczona przez Shameh i in. (2018) w płatkach róż kilku odmian wynosiła 25,13-52,01 mg GAE/g s.m., natomiast ta oznaczona przez Baibuch i in. (2023) zawierała się w przedziale 15,2-173,9 mg związków fenolowych, w przeliczeniu na kwas galusowy, przy czym zmienność powyższych wyników analiz była determinowana zarówno odmianą róży, jak i metodą ekstrakcji analitów. Przedstawione w literaturze informacje dotyczące zawartości związków fenolowych w kwiatach nagietka lekarskiego są bardzo zróżnicowane: przykładowo w kwiatach nagietka ze Sri Lanki oznaczono całkowitą zawartość związków fenolowych na poziomie 39,9 mg GAE/g s.m. (Janarny i in. 2021), a w kwiatach tego samego gatunku rosnących w Serbii – od 18 do 104 mg GAE/g s.m., w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji tych związków (Batinić i in. 2022). Marian i in. (2017) w badaniach porównujących aktywność biologiczną kwiatów nagietka lekarskiego i chabra bławatka stwierdzili, że całkowita zawartość polifenoli w tych pierwszych kwiatach wynosiła niemal 719 mg GAE/100 g s.m., a w tych drugich – prawie 117 mg GAE/100 g s.m. Oznaczona w ramach niniejszej pracy całkowita zawartość związków fenolowych w suszu z kwiatów chabra bławatka (5,9 mg GAE/1 g) była wyższa niż ilość tych związków wyznaczona przez Escher i in. (2018) (3,9-4,9 mg GAE/1 g). Cytowani autorzy wskazują, iż

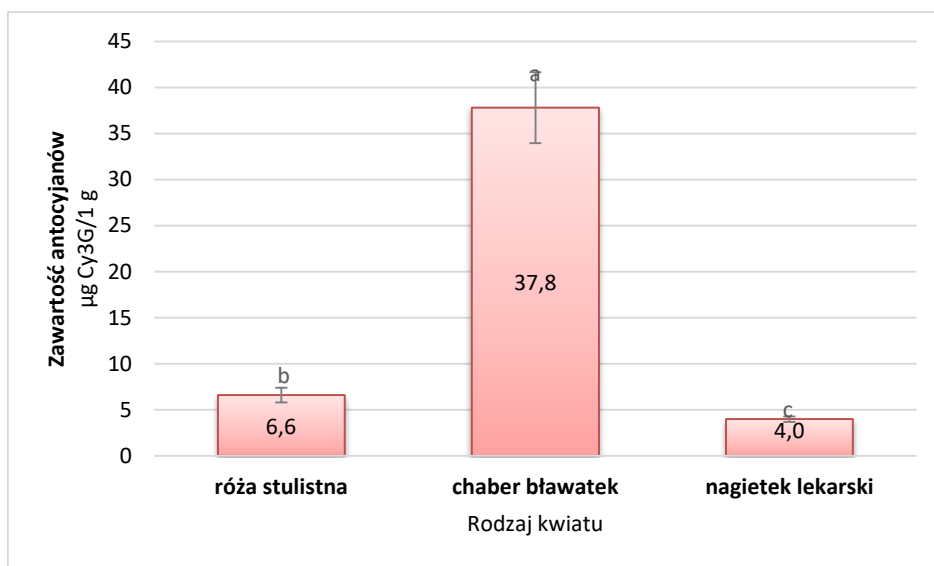


zmienność wyników oznaczeń determinowana była temperaturą oraz czasem ekstrakcji analizów.



**Rysunek 2.** Zawartość związków fenolowych w suszonych płatkach kwiatów  
Objaśnienia: jak pod rysunkiem 1

Antocyjany stanowią największą grupę pigmentów wśród flawonoidów, które wspólnie z karotenoidami, nadają kwiatom różnorodne barwy (Grzesiuk i in. 2007). Wyniki przeprowadzonego w ramach niniejszej pracy oznaczenia zawartości monomerycznych antocyjanów w suszach kwiatowych wykazały, iż suszone płatki chabra bławatka wyróżniały pod względem tego parametru: ilość zawartych w nich antocyjanów przekraczała ponad dziewięciokrotnie zawartość tych związków z suszu płatków z nagietka lekarskiego i niemal sześciokrotnie – w suszu z płatków róży stulistnej (rys. 3). Wskazuje to na wysoki potencjał kwiatów chabra bławatka jako źródła naturalnych barwników, z możliwością zastosowania w branży spożywczej, farmaceutycznej czy kosmetycznej. Stwierdzona w niniejszych badaniach zawartość antocyjanów w zliofilizowanych kwiatach chabra bławatka jest wyższa od tej oznaczonej techniką chromatograficzną przez Lockowandt i in. (2019) (27  $\mu\text{g}/1\text{ g}$ ). Intensywną niebieską barwę kwiatów chabra bławatka przypisuje się obecności supramolekularnego pigmentu zwanego procyaniną, będącą kompleksem antocyjanu, flawonu, jonów żelaza(III) i jonów magnezu (Lockowandt i in. 2019). Kulchenko i in. (2020) zidentyfikowali w suszonych kwiatach chabra bławatka m.in. następujące antocyjany: cyjanidyno-3,5-diglukozyd, cyjanidyno-3-O-(6-O-malonyloglukozyd)-5-glukozyd oraz rzadko występujący w przyrodzie cyjanidyno-3-O-(6-O-bursztynyloglukozyd)-5-glukozyd.



**Rysunek 3.** Zawartość monomerycznych antocyjanów w suszonych płatkach kwiatów  
Objaśnienia: jak pod rysunkiem 1

Dwoma głównymi antocyjanami zidentyfikowanymi przez Kumari i in. (2022) w kilkunastu odmianach róż indyjskich okazały się 3,5-di-O-glukozyd cyjanidyny oraz 3,5-di-O-glukozyd pelargonidyny. Maksymalna zawartość tego pierwszego związku, charakterystycznego dla odmian róż o barwie różowej i czerwonej, oznaczona przez wyżej cytowanych autorów wyniosła niemal 4980 µg/1 g, a minimalna – 290 µg/1. W badanym w ramach niniejszej pracy suszu nagietka lekarska stwierdzono stosunkowo niską zawartość monomerycznych antocyjanów (4,0 µg Cy3G/1 g) – była ona niższa od tej określonej przez Janarney i in. (2021) i wynoszącej 21 Cy3G/1 g s.m.

W niniejszych badaniach suszone płatki kwiatów stanowiły komponenty produktów o charakterze deserów. Wyjściowe produkty stanowiące bazę deserów charakteryzowały się jasną białokremową barwą (jogurt naturalny, krem z sera mascarpone) lub były jej pozbawione (przeźroczysta galaretka). Obecność składnika kwiatowego w tych produktach wpłynęła na zmianę ich barwy, mierzoną instrumentalnie (tab. 1). Stwierdzono zmniejszenie jasności (obniżenie wartości parametru L\*) jogurtów oraz kremów tortowych, z wyjątkiem kremu z suszem z róży stulistnej. W przypadku galaretek, istotne zmniejszenie jasności ich barwy dotyczyło jedynie galaretki z dodatkiem suszu z chabra bławatka.

**Tabela 1.** Parametry barwy deserów

Parametr barwy	Rodzaj deseru			
	J-O	J-NL	J-ChB	J-RS
<b>L*</b>	88,70 ± 0,02	79,33 <sup>a</sup> ± 0,13	70,33 ± 0,07	79,51 <sup>a</sup> ± 0,20
<b>a*</b>	-1,17 <sup>a</sup> ± 0,01	6,24 ± 0,20	-1,31 <sup>a</sup> ± 0,03	1,32 ± 0,27
<b>b*</b>	7,91 ± 0,06	19,59 ± 0,58	-8,25 ± 0,19	9,29 ± 0,23
<b>ΔE*</b>		16,71	24,47	9,62
	G-O	G-NL	G-ChB	G-RS
<b>L*</b>	40,26 <sup>a</sup> ± 0,76	40,67 <sup>ab</sup> ± 0,49	38,34 ± 0,78	41,54 <sup>b</sup> ± 0,41
<b>a*</b>	-1,58 ± 0,02	-0,84 ± 0,40	5,24 ± 0,30	1,96 ± 0,23
<b>b*</b>	3,71 <sup>a</sup> ± 0,13	10,69 ± 1,56	3,47 <sup>a</sup> ± 0,42	6,76 ± 0,88
<b>ΔE*</b>		7,03	7,09	4,84
	K-O	K-NL	K-ChB	K-RS
<b>L*</b>	83,03 <sup>a</sup> ± 0,49	80,46 ± 0,15	79,77 ± 0,02	83,07 <sup>a</sup> ± 0,12
<b>a*</b>	0,13 ± 0,02	4,11 ± 0,09	-0,20 ± 0,03	0,85 ± 0,01
<b>b*</b>	10,70 <sup>a</sup> ± 0,26	22,55 ± 0,16	5,42 ± 0,10	10,95 <sup>a</sup> ± 0,02
<b>ΔE*</b>		12,76	6,21	0,76

Objaśnienia: Symbole próbek podano w rozdziale 2.1. Wartości średnie w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

Zmiany chromatyczności barwy badanych produktów, wyrażanej wartościami parametrów  $a^*$  i  $b^*$ , uwarunkowane były rodzajem zarówno deseru bez dodatku suszu kwiatowego, jak i dodatku kwiatowego. Obecność suszu z nagietka lekarskiego skutkowałą zwiększeniem udziału odcienia czerwonego i jednocześnie zwiększeniem udziału odcienia żółtego w barwie jogurtu i kremu tortowego, a w przypadku galaretki – zmniejszeniem i zwiększeniem udziałów odcieni, odpowiednio, zielonego i żółtego w jej barwie. Opisane zmiany barwy deserów wynikały z faktu, iż kwiaty nagietka lekarskiego są źródłem żółtych i pomarańczowych karotenoidów, m.in. neoksantyny, wiolaksantyny, luteoksantyny, auroksantyny, flawoksantyny, likopenu i karotenu (Kishimoto i in. 2005, Pintea i in. 2003). Konsekwencją dodatku suszu z chabra bławatka do deserów, z wyjątkiem galaretki, było istotne zmniejszenie udziału odcienia żółtego w ich barwie, a nawet – co miało miejsce w przypadku jogurtu – pojawienie się odcienia niebieskiego. Charakterystyczna niebieska barwa kwiatów chabra bławatka wynika z wysokiej zawartości w nim antocyjanów, co zostało również wykazane w niniejszych badaniach (rys. 3), z dominującą procyjaniną (Escher i in. 2018, Lockowandt i in. 2019). W barwie deserów wzbogaconych suszonymi płatkami róży stulistnej, szczególnie w galaretkce, pojawiły się odcienie czerwone, a także, w niewielkim stopniu, zintensyfikował się odcień żółty. Zaobserwowane zmiany barwy były konsekwencją obecności szeregu karotenoidów w płatkach róż, szczególnie beta-karotenu, zeaksantyny, likopenu, luteiny czy beta-kryptoksantyny (Kalemba-Drożdż i in. 2022). Analizując całkowitą różnicę barw ( $\Delta E^*$ ) między barwą bazy danego deseru a barwą deseru z dodatkiem suszu kwiatowego stwierdzono, że była ona bardzo wyraźna w

przypadku wszystkich deserów (jogurtów, galaretek i kremów tortowych), z wyjątkiem różnicy barw między kremem tortowym bez dodatku kwiatowego i kremem tortowym z dodatkiem suszu z płatków róży stulistnej – różnica ta była nierozpoznawalna.

**Tabela 2.** Wyniki analizy sensorycznej deserów metodą skalowania










Deskryptor	Intensywność wrażenia				
	1 – zbyt nie-intensywne	2	3	4	5 – zbyt intensywne
Barwa		● ▼ ▼ ■	● ● ▼ ■ ■		
Nuta zapachowa kwiatowa	●	● ● ■ ■ ■			
Wyczuwalność cząstek			● ▼ ■ ■ ■	● ▼ ▼ ■ ■	●
Nuta smakowa kwiatowa			● ● ■ ■	● ■	
Smak gorzki		▼ ▼ ■ ■	● ● ● ▼ ■		
Smak kwaśny	■ ■ ■	▼ ▼	● ● ▼	●	
Smak słodki	● ●		● ▼ ▼ ▼ ■ ■ ■	■	
Cierpkość	■ ■ ■	▼ ▼	● ● ● ▼		

Objaśnienia: ● ● ● – odpowiednio: J-NL, J-ChB, J-RS; ▼ ▼ ▼ – odpowiednio: G-NL, G-ChB, G-RS; ■ ■ ■ – odpowiednio: K-NL, K-ChB, K-RS; Symbole próbek: jak w podrozdziale 2.1

Konsumenci oczekują od deserów atrakcyjności wizualnej, teksturalnej i smakowej. Wyniki analizy sensorycznej deserów wzbogaconych zliofilizowanymi, rozdrobnionymi płatkami kwiatów zestawiono w tabeli 2. Barwę wszystkich badanych deserów uznano za optymalną (noty 2-3). Pod względem tekstury ocenie doustnej poddano wyczuwalność cząstek suszu. Szczególnie wyczuwalna w deserach, a zwłaszcza w jogurcie, była obecność suszu z chabra bławatka. Susz z nagietka wkomponował się w konsystencję deserów – oceniający uznali, iż wyczuwalność jego cząstek była umiarkowana. Nuty zapachowa kwiatowa i smakowa kwiatowa były oceniane wyłącznie w deserach na bazie jogurtu i kremu z serem mascarpone, a więc w produktach, które przed wprowadzeniem do nich dodatku kwiatowego cechowały się bardzo słabym zapachem i neutralnym smakiem. Oceniający uznali nutę zapachową kwiatową za zbyt nieintensywną lub słabo wyczuwalną (mało intensywną), co najprawdopodobniej wynikało z formy przygotowania płatków kwiatów, tj. liofilizacji. W badanych deserach stwierdzono odczuwalność nuty smakowej kwiatowej – była ona intensywna zarówno w jogurcie, jak i w kremie tortowym z dodatkiem chabra bławatka. Susz z płatków tego kwiatu nadał deserom nutę gorzką, przy czym jej

intensywność oceniona została jako optymalna, co wskazuje na właściwy dobór ilości suszu kwiatowego dodawanego do deserów. Intensywności smaku kwaśnego i słodkiego również podyktowane były bazą deseru – najmniej kwaśne były desery na bazie kremu, a najbardziej – jogurtu, a odwrotną zależność stwierdzono dla słodkości. Biorąc pod uwagę cierpkość deserów, wrażenie to było w najmniejszym stopniu odbierane przy spożywaniu kremów tortowych. Taki rezultat oceny sensorycznej mógł wynikać z najbardziej złożonego składu recepturowego tych deserów – gęsty ser mascarpone, śmietanka oraz cukier mogły przyczynić się do tłumienia wrażenia cierpkości nadawanej przez susz kwiatowy.

**Tabela 3.** Wyniki analizy sensorycznej deserów metodą szeregowania

Poziom pożądalności	Rodzaj deseru		
	J	G	K
I			
II			
III			

Objaśnienia: jak pod tabelą 2

Członkowie zespołu oceniającego dokonali szeregowania produktów w obrębie danego deseru: na bazie jogurtu, galaretki i kremu z sera mascarpone. Ze wszystkich grup produktów najbardziej preferowane były desery z dodatkiem nagietka lekarskiego. Stosując nieparametryczny test Friedmana służący do porównania średnich w kilku zależnych grupach stwierdzono, że istnieją różnice pomiędzy poszczególnymi rangami (przy ocenie badanych produktów). W grupie jogurtów, ten z dodatkiem nagietka był najbardziej pożądanym – w opinii oceniających najlepiej rozpyślał się w ustach, a jego barwa była optymalna. Spośród galaretek najbardziej preferowaną była ta z dodatkiem kwiatów nagietka lekarskiego – wyróżniała się pożądanym wyglądem. Mączystość odczuwalna w galaretkie z suszem z róży stulistnej wpłynęła na sklasyfikowanie tego deseru jako najmniej pożądanego. Za najbardziej pożądanym kremem z płatkami kwiatów oceniający uznali ten z nagietkiem lekarskim, z uwagi na to, iż charakteryzował się on pożądaną żółtopomarańczową barwą i aksamitną konsystencją.

Podsumowując wyniki badań można stwierdzić, że dodatek kwiatów jadalnych nie tylko wzbogaca produkty deserowe w związki o dużym potencjale przeciwutleniającym, ale również zwiększa ich atrakcyjność sensoryczną.

#### 4. Wnioski

1. Badane kwiaty jadalne były źródłem związków polifenolowych i charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą. Najwięcej związków polifenolowych zawierał susz z płatków róży stulistnej, a największą zawartością monomerycznych antocyjanów odznaczał się susz z płatków chabra bławatka.
2. Nadawane przez kwiaty smak gorzki i cierpkość były najbardziej odczuwane w deserach na bazie jogurtu. Z kolei desery na bazie kremu z sera mascarpone okazały się najmniej kwaśne i najmniej cierpkie.

3. Spośród deserów wzbogacanych kwiatami najbardziej pożądane były te z nagietkiem lekarskim – cechowały się intensywną żółtopomarańczową barwą oraz odpowiednią rozpywalnością w ustach.

*Badania zostały częściowo sfinansowane z dotacji przyznanej przez MEiN na działalność statutową.*

## Literatura

1. Baibuch S., Zema P., Bonifazi E., Cabrera G., Mondragón Portocarrero A. D. C., Campos C., Malec L. (2023). Effect of the drying method and optimization of extraction on antioxidant activity and phenolic of rose petals. *Antioxidants*, 12(3), 681, 1-15.
2. Batinić P., Milošević M., Lukić M., Prijic Ž., Gordanić S., Filipović V., Marinković A.D., Bugarski B.M., Marković T. (2022). In vitro evaluation of antioxidative activities of the extracts of petals of *Paeonia lactiflora* and *Calendula officinalis* incorporated in the new forms of biobased carriers. *Food and Feed Research*, 49 (1), 23-35.
3. Chudy S., Gierałtowska U., Krzywdzińska-Bartkowiak M., Piątek M. (2016). Pomiar barwy produktów mlecznych. W: Piasecka-Kwiatkowska D., Cegielska-Radziejewska R. (red.). *Współczesne trendy w kształtowaniu jakości żywności*. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań, 85-95.
4. dos Santos A.M.P., Silva E.F.R., dos Santos W.N.L., da Silva E.G.P., dos Santos L.O., Santos B.R.D.S., Sauthier M.C.D.S., dos Santos W.P.C. (2018). Evaluation of minerals, toxic elements and bioactive compounds in rose petals (*Rosa* spp.) using chemometric tools and artificial neural networks. *Microchemical Journal*, 138, 98-108.
5. Escher G.B., Santos J.S., Rosso N.D., Marques M.B., Azevedo L., do Carmo M.A.V., Dagher H., Molognoni L., Prado-Silva L.D., Sant'Ana A.S., da Silva M.C., Granato, D. (2018). Chemical study, antioxidant, anti-hypertensive, and cytotoxic/cytoprotective activities of *Centaurea cyanus* L. petals aqueous extract. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 439-453.
6. Gałkowska D., Witczak T., Pycia K. (2022). Quality characteristics of novel pasta enriched with non-extruded and extruded blackcurrant pomace. *Molecules*, 27, 8616.
7. Grzesiuk A., Dębski H., Horbowicz M., Saniewski M. (2007). Występowanie, biosynteza i akumulacja antocyjanów w roślinach. *Postępy Nauk Rolniczych*, 5, 65-78.
8. Hegde A. S., Gupta S., Sharma S., Srivatsan V., Kumari P. (2022). Edible rose flowers: a doorway to gastronomic and nutraceutical research. *Food Research International*, 162 (Pt A):111977.
9. Janarny G., Ranaweera K.K.D.S., Gunathilake K.D.P.P. (2021). Antioxidant activities of hydro-methanolic extracts of Sri Lankan edible flowers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102081.
10. Kalemba-Drożdż M., Ciernia, A., Kwiecień I. (2022). Owoce, jadalne kwiaty i liście dzikich roślin – surowce polifenolowe działają jako skuteczne czynniki przeciwutleniające i genoprotekcyjne. W: Kalemba-Drożdż M., Grzywacz-Kisielewska A., Cierniak A. (red.).

Surowce polifenolowe. Zastosowania i perspektywy. Oficyna Wydawnicza KAAFM, Kraków, 75-76.

11. Kalisz A., Włodarczyk Z., Bieniasz M., Smoleń S., Neugebauerová J., Szewczyk-Taranek, B., Pawłowska B. (2023). Petals of different ornamental rose cultivars as a rich source of bioactive compounds for functional foods. *Scientia Horticulturae*, 321, 112240.
12. Kishimoto S., Maoka T., Sumitomo K., Ohmiya A. (2005). Analysis of carotenoid composition in petals of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(11), 2122-2128.
13. Koczka N., Stefanovits-Bányai É., & Ombódi A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some *Rosa* species. *Medicines*, 5(3), 84.
14. Kulchenko Y.Y., Oleinits E.Y., Deineka V.I., Varushkina S. M., Deineka L.A., Chulkov A. N. (2020). Non-traditional sources of anthocyanins: flowers of centaurea cyanus (cornflower). *EurAsian Journal of BioSciences*, 14(1), 1443-1448.
15. Kumari P., Raju D.V.S., Prasad K. V., Saha S., Panwar S., Paul, S., Banyal N., Bains A., Chawla P., Fogarasi M., Fogarasi S. (2022). Characterization of anthocyanins and their antioxidant activities in Indian rose varieties (*Rosa × hybrida*) using HPLC. *Antioxidants*, 11(10), 2032.
16. Lockowandt L., Pinela J., Roriz C.L., Pereira C., Abreu R.M., Calhelha R.C., Alves M.R., Barros L., Bredol M., Ferreira I.C. (2019). Chemical features and bioactivities of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) capitula: The blue flowers and the unexplored non-edible part. *Industrial Crops and Products*, 128, 496-503.
17. Loizzo M.R., Pugliese A., Bonesi M., Tenuta M.C., Menichini F. Xiao, J., Tundis R. (2016). Edible flowers: A rich source of phytochemicals with antioxidant and hypoglycemic properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(12), 2467-2474.
18. Marian E., Vicaș L.G., Tunde J., Mureșan M., Stan R.L., Sevastre B., Diaconeasa Z., Ionescu C., Hangan A.C. (2017). A comparative study on the biologic activity of *Centaurea cyanus* versus *Calendula officinalis*. *Farmacia*, 65(6), 940-946.
19. Meda A., Lamien C. E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577.
20. Nurzyńska-Wierdak R., Zawiślak, G., Pacek, M., Rodkiewicz, T. (2015). Ocena morfologiczna roślin oraz analiza składu chemicznego kwiatów wybranych odmian nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.). *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EEE: Horticultura*, 25(4), 25-35.
21. Pintea A. (2003). HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 37-40.
22. PN-EN ISO 8589:2010. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
23. PN-ISO 3972:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.

24. PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
25. PN-ISO 5496:1997. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wprowadzenie i szkolenie oceniających w wykrywaniu i rozpoznawaniu zapachów.
26. Shameh S., Hosseini B., Alirezalu A., Maleki R. (2018). Phytochemical composition and antioxidant activity of petals of six *Rosa* species from Iran. *Journal of AOAC International*, 101(6), 1788-1793.
27. Śmiechowska M. (2018). Czynniki wpływające na atrakcyjność kwiatów jadalnych. *Nauki Inżynierskie i Technologie*, 1 (28), 42-49.
28. Zheng J., Lu B., Xu B. (2021). An update on the health benefits promoted by edible flowers and involved mechanisms. *Food Chemistry*, 340, 127940.

### **Edible flowers as ingredients of dessert-like products**

#### **Abstract**

The aim of the study was to produce dessert-like products with the addition of freeze-dried and crushed petals of edible flowers: marigold (*Calendula officinalis* L.), cornflower (*Centaurea cyanus* L.) and rose (*Rosa centifolia*). The desserts were made of one of the following products: natural yogurt, strawberry-vanilla flavoured clear jelly and mascarpone cheese cream and cream 30% with powdered sugar. Among the tested flower additives, rose petals were characterized by the highest antioxidant activity and the highest polyphenolic compound content. In turn, cornflower petals had the highest content of monomeric anthocyanins. The addition of dried flower petals changed the colour of the resulting desserts. The dried flowers imparted bitterness and tartness to the products. Based on the results of the sensory analysis performed by the ranking method, it was found that products with the addition of crushed marigold petals were the most preferred.



## **Właściwości przeciwutleniające brokułów fortyfikowanych jodem w postaci jodku potasu lub jodanu(V) potasu**

Krystyna Szymandera-Buszką\*, Agata Jankowska, Marzanna Heś,  
Anna Jędrusek-Golińska

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu,  
Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej*

*\*Autor korespondencyjny: krystyna.szymandera\_buszka@up.poznan.pl*

### **Streszczenie**

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania brokułu w roli nośnika jodu pierwiastkowego pochodzącego z jodku potasu (KI) lub jodanu(V) potasu (KIO<sub>3</sub>). Postawiono hipotezę, że zarówno stężenie roztworu soli KI lub KIO<sub>3</sub>, w którym namaczano brokuły, jak i rodzaj użytej soli będącej źródłem jodu wpływają na efektywność fortyfikowania brokułów oraz na ich aktywność przeciwutleniającą.

Jako materiał do badań wykorzystano dwie odmiany brokułu: Cezar i Sebastian. Fortyfikacja brokułu jodem polegała na namoczeniu go w roztworze soli (KI lub KIO<sub>3</sub>), a następnie na jego wysuszeniu. Zarówno w próbkach bezpośrednio po wysuszeniu, jak i po 320 dniach przechowywania w temperaturze 21 ± 1 °C oznaczono zawartość jodu. Ponadto, zbadano aktywność przeciwutleniającą próbek metodami neutralizowania rodnika DPPH oraz kationorodnika ABTS.

Na podstawie wyników badań stwierdzono wysoki odzysk jodu w próbkach po suszeniu oraz wysoką stabilność jodu w próbkach w czasie ich przechowywania. Wolniejsze tempo zmian zawartości jodu wykazano w próbkach traktowanych KIO<sub>3</sub>. Wyniki analizy statystycznej wykazały istnienie zależności ( $p < 0,01$ ) aktywności przeciwutleniającej próbek od rodzaju soli fortyfikującej oraz od jej stężenia. Nie stwierdzono różnic w zdolnościach do dezaktywacji kationorodnika ABTS i rodnika DPPH między próbką niefortyfikowaną i próbkami fortyfikowanymi roztworami KI. Podobnie, aktywność przeciworodnikowa próbek traktowanych KIO<sub>3</sub> o stężeniu nieprzekraczającym 1,3 mg jodu/100 g nie różniła się od tej wykazywanej przez próbkę niefortyfikowaną. Z kolei próbki brokułu namaczone w roztworze KIO<sub>3</sub> o wyższych stężeniach wykazywały istotnie niższą zdolność do neutralizowania wolnych rodników.

**Słowa kluczowe:** jod, fortyfikacja jodem, brokuły, profilaktyka jodowa

### **1. Wprowadzenie**

Przyjmuje się, że około 30% światowej populacji jest nadal narażona na ryzyko niedoboru jodu (Hatch-McChesney i Lieberman 2022). Niedobór jodu może wynikać z wykluczenia z diety podstawowych jego źródeł (de Escalada Pla, Flores i Genevois 2020, Krela-Kaźmierczak i in. 2021). Wskazuje się na fakt niedoboru tego składnika szczególnie u młodych kobiet (Zaremba i Gramza-Michalowska i in. 2023). Weganie eliminują ze swojej

diety podstawowe źródła jodu, takie jak nabiał i ryby, co czyni ich grupą szczególnie narażoną na niedobory tego pierwiastka. W wielu krajach świata prowadzone są programy wzbogacania żywności w jod, aby zminimalizować ryzyko niedoborów tego pierwiastka w diecie (Chanthilath i in. 2009, Dasgupta i in. 2008). Jedną z najczęstszych strategii wzbogacania jest jodowanie soli. Jednak w 2006 roku Światowa Organizacja Zdrowia zaleciła ograniczenie spożycia soli do 5 g/dzień, gdyż jest ona czynnikiem ryzyka miażdżycy i nadciśnienia tętniczego (WHO 2008). W konsekwencji podaż jodu z tego źródła może być ograniczona (WHO 2022). Konieczne jest zatem znalezienie innych nośników jodu. Liczne badania wskazują na skuteczność biofortyfikacji jodem produktów roślinnych (Golob i in. 2020, Krzepińko i in. 2015). Fortyfikowanie żywności jest stosunkowo prostą i wysoce skuteczną metodą zapobiegania występowaniu najczęstszych niedoborów składników odżywczych, w tym jodu, w populacji oraz metodą uzupełniania tych niedoborów (Chadare i in. 2019, Mackerras i in. 2011, Olson i in. 2021). Potwierdzono możliwość wykorzystania zarówno preparatów białkowych, jak i błonnikowych jako dobrych nośników jodu (Szymandera-Buszka i in. 2021b, Waszkowiak i Szymandera-Buszka 2005). Wstępne badania potwierdziły także możliwość wykorzystania warzyw, np. dyni, jako dobrych nośników jodu (Zaremba i in. 2022b). Potwierdzono wysoką efektywność wzbogacania pieczywa w susz buraków fortyfikowanych jodem (Zaremba i in. 2022). Warzywa mogą stanowić element urozmaicenia diety, a jednocześnie atrakcyjne alternatywne źródło jodu dla wszystkich konsumentów, zwłaszcza wegetarian i wegan.

Brokuły są spożywane m.in. w postaci dodatku (w formie suszu lub żelu) do chleba, makaronów i innych produktów zbożowych (Gonnella i in. 2019, Porter 2012, Szymandera-Buszka i in. 2021a). Produkty z dodatkiem brokułów są również ważnym źródłem polifenoli (Syed 2019). Wiele badań potwierdza ich właściwości przeciwutleniające (Porter 2012, Syed i in. 2023). Potwierdzono zmienną aktywność przeciwutleniającą suszu dyni fortyfikowanej jodem, w zależności od ilości oraz rodzaju soli będącej źródłem jodu (Zaremba i in. 2023b).

Celem niniejszej pracy było zbadanie możliwości wykorzystania brokułu jako nośnika jodu, wprowadzanego w postaci soli (KI lub  $KIO_3$ ) użytej w formie roztworów o stężeniach od 0,023 mg jodu/100 g do 3,000 mg jodu/100 g. Postawiono hipotezę, że stężenie i rodzaj soli będącej źródłem jodu wpływają na efektywność fortyfikowania brokułów oraz na ich aktywność przeciwutleniającą.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Materiał badany

Jako matrycę dla jodu wykorzystano dwie odmiany brokułu: Cezar (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) i Sebastian (*Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *cymosa*). Materiał roślinny pochodził z targowisk Wielkopolski. Surowiec zawierał jod w ilości poniżej 0,003 mg/100 g. Substancjami fortyfikującymi były jodek potasu (KI) oraz jodan(V) potasu (Merck, Niemcy).

Warzywa umyto i podzielono na różyczki. Następnie gotowano je na parze (100 °C, 10 min) w piecu konwekcyjnym (Rational, Landsberg am Lech, Niemcy), odsączano i poddano homogenizacji (homogenizator Foss, Hilleroed, Dania). W kolejnym etapie obróbki, próbki brokułów moczo w roztworze KI lub KIO<sub>3</sub>, zachowując stosunek masy surowca do objętości roztworu soli wynoszący 1:1. Zastosowano roztwory soli o następujących stężeniach: 3,000; 2,300; 1,300; 0,770; 0,230 i 0,023 mg jodu/100 g. Następnie próbki brokułów inkubowano w temperaturze -76 °C przez 12 h, po czym poddano je liofilizacji (do zawartości wody wynoszącej 4-5%) oraz homogenizacji (homogenizator Foss, Hilleroed, Dania). Próbki przechowywano w słojach zamykanych zakrętką (szkło czarne, d = 7 cm, h = 10 cm) w temperaturze 21 ± 1 °C, przez 1 dzień, 60 dni, 120 dni, 180 dni, 240 dni oraz 320 dni.

## **2.2. Metody badań**

### **2.2.1. Badanie zawartości jodu**

Zawartość jodu ogólnego w próbkach nieprzechowywanych (bezpośrednio po suszeniu) oraz przechowywanych przez 1 dzień, 60 dni, 120 dni, 180 dni, 240 dni oraz 320 dni oznaczono metodą makrochemiczną z tiocyjanianem potasu (Kuhne i in. 1993) oraz metodą kolorymetryczną (Moxon i Dixon 1980). Analizy przeprowadzono w sześciu powtórzeniach (dwie próbki niezależne, po trzy pomiary każdej próbki). Określono dynamikę zmian zawartości jodu w próbkach przechowywanych biorąc pod uwagę wartość okresu, w którym początkowa zawartość jodu zmniejszyła się o 25% ( $T_{25\%}$ ).

### **2.2.2. Badanie aktywności przeciwutleniającej**

Z próbek bezpośrednio po suszeniu oraz przechowywanych przez 320 dni sporządzono ekstrakty etanolowe w drodze dwugodzinnej maceracji 80% etanolem (stosunek masy produktu do objętości ekstrahenta wynosił 1:10) (Gudiño i in. 2022). Aktywność przeciwutleniającą ekstraktów badano metodami neutralizowania kationorodnika ABTS (ABTS<sup>•+</sup>) (Re i in. 1999) oraz rodnika DPPH (DPPH<sup>•</sup>) (Chu i in. 2000). Wyniki oznaczeń wyrażono, odpowiednio, w % inhibicji kationorodnika ABTS oraz w % inhibicji rodnika DPPH. Analizy przeprowadzono w sześciu powtórzeniach (dwie próbki niezależne, po trzy pomiary każdej próbki).

## **2.3. Analiza statystyczna**

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu STATISTICA™ PL 13.3 (StatSoft, Polska): przeprowadzono analizę ANOVA ( $p < 0,05$ ) oraz test Tukeya. Dokładność modeli dynamiki zmian zawartości jodu w próbkach podczas przechowywania oszacowano za pomocą współczynnika determinacji ( $R^2$ ) i błędu średniokwadratowego (RMSE). Poziom istotności we wszystkich analizach statystycznych przyjęto na poziomie 5%.

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Zawartość i stabilność jodu

W tabeli 1 przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości jodu w fortyfikowanych jodem suszach brokułów bezpośrednio po suszeniu oraz przechowywanych 320 dni. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono wysoki odzysk wprowadzonego jodu (87-93%) w próbkach każdej odmiany warzywa bezpośrednio po suszeniu oraz wysoką stabilność jodu w czasie przechowywania (320 dni) (79-74%). Dotychczasowe dane literaturowe dotyczące wzbogacania warzyw (np. dyni) wskazują na podobny poziom odzysku jodu we wzbogaczonych matrycach (Szymandera-Buszka i in. 2021, Zaremba i in. 2023). We wcześniejszych badaniach mających na celu fortyfikację dyni jodem także stwierdzono wysoką stabilność jodu podczas przechowywania warzyw. Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wyników oznaczeń wykazały istotny wpływ ( $p < 0,05$ ) rodzaju soli użytej do wzbogacenia brokułów na stabilność jodu. Stwierdzono wysoką stabilność jodu w próbkach fortyfikowanych, przy czym wyższą stabilność odnotowano w przypadku użycia roztworu  $KIO_3$  do fortyfikacji. Analiza dynamiki zmian zawartości jodu ( $T_{25\%}$ ) potwierdziła najszybsze tempo przemian jodu w próbkach fortyfikowanych przy użyciu roztworu KI (tab. 2). Wcześniejsze badania również wykazały większą niestabilność zawartości jodu w przypadku fortyfikacji soli jodkiem potasu (Diosady i Mannar 2000). Powyższe obserwacje tłumaczy się mechanizmem przemiany formy jodu. Jodan(V) potasu ulega redukcji do jodku potasu, a ten zachowuje się jak zwykła sól jonowa i łatwo ulega utlenieniu do  $I_2$  (Rana i Raghuvanshi 2013, Shi 2004). Biorąc pod uwagę niską zawartość wody w produkcie oraz warunki przechowywania zapewniające ograniczony dostęp tlenu, powyższe przemiany były spowolnione.

Wyniki badań wykazały przeciwrodnikowe działanie brokułów obu odmian, zarówno względem rodnika DPPH, jak i kationorodnika ABTS. Obserwacje te są zgodne z danymi literaturowymi (Cebulak i in. 2015, Hwang 2015). Stwierdzono jednak obniżenie zdolności wychwytywania wolnych rodników (ABTS<sup>•+</sup> i DPPH<sup>•</sup>) przez próbki przechowywane przez 320 dni (rys. 1 i 2), co jest zgodne z wynikami innych badań (Cao i in., 2015, Zaremba i in., 2023, Winger i in. 2008). Wyniki analizy statystycznej wykazały istnienie związku pomiędzy rodzajem soli wprowadzającej jod oraz jej stężeniem a aktywnością przeciwutleniającą produktów, zarówno badanych bezpośrednio po suszeniu, jak i po przechowywaniu (tab. 3). Zaobserwowano silną zależność aktywności przeciwutleniającej (wyznaczonej dwiema metodami) od stężenia jodu wprowadzanego w formie  $KIO_3$  ( $F = 85,20$ ;  $p < 0,05$  oraz  $F = 447,50$ ;  $p < 0,05$ ; odpowiednio w teście z ABTS<sup>•+</sup> i w teście z DPPH<sup>•</sup>). Stwierdzono, że w układach z  $KIO_3$  oraz KI, w których stężenie jodu wynosiło 0,023 i 0,230 mg/100 g i badanych po 320 dniach przechowywania wielkość inhibicji wolnych rodników (ABTS<sup>•+</sup> i DPPH<sup>•</sup>) nie różniła się statystycznie istotnie od wielkości tych parametrów mierzonych w próbkach bezpośrednio po suszeniu (rys. 1b i 2b). Podobnie, w próbkach traktowanych roztworami KI, w których stężenie jodu wynosiło 1,300; 2,300 i 3,000 mg/100 g, nie stwierdzono różnic w zdolności do neutralizacji wolnych rodników. Z kolei traktowanie obu

odmian brokułów roztworem  $KIO_3$  w dawce 2,300 lub 3,000 mg jodu/100 g spowodowało znaczące zmniejszenie stopnia neutralizacji wolnych rodników w porównaniu do próbek niefortyfikowanych – o 5-6% w przypadku niższej dawki jodu w próbkach nieprzechowywanych (rys. 1a i 2a) oraz o 15% i 18% w przypadku wyższej dawki jodu w próbkach przechowywanych (rys. 1b i 2b).

**Tabela 1.** Zawartość jodu (%)<sup>\*</sup> w suszach brokułowych fortyfikowanych jodem

Stężenie jodu w roztworze soli (mg/100 g)	Odmiana brokułu			
	Cezar		Sebastian	
	Rodzaj soli			
	$KIO_3$	KI	$KIO_3$	KI
	Próbki bezpośrednio po suszeniu			
0,023	91,25 <sup>Ab</sup> ± 0,56	89,69 <sup>Ba</sup> ± 0,45	92,32 <sup>Ab</sup> ± 0,52	88,36 <sup>Cb</sup> ± 0,35
0,230	92,03 <sup>Ab</sup> ± 0,48	88,12 <sup>Bb</sup> ± 0,37	91,98 <sup>Acb</sup> ± 0,29	87,65 <sup>Bb</sup> ± 0,52
0,770	91,36 <sup>Ab</sup> ± 0,51	89,02 <sup>Bba</sup> ± 0,46	91,26 <sup>Adc</sup> ± 0,51	89,90 <sup>Ba</sup> ± 0,56
1,300	91,89 <sup>Ab</sup> ± 0,48	88,12 <sup>Cb</sup> ± 0,41	90,56 <sup>Bd</sup> ± 0,49	87,45 <sup>Cb</sup> ± 0,49
2,300	93,54 <sup>Aa</sup> ± 0,39	87,89 <sup>Cb</sup> ± 0,22	91,30 <sup>Bcb</sup> ± 0,36	88,36 <sup>Cb</sup> ± 0,53
3,000	92,03 <sup>ba</sup> ± 0,42	87,69 <sup>Cb</sup> ± 0,34	93,45 <sup>Aa</sup> ± 0,45	87,56 <sup>Cb</sup> ± 0,59
	Próbki przechowywane 320 dni			
0,023	78,54 <sup>Aba</sup> ± 0,58	75,32 <sup>Ba</sup> ± 0,35	77,98 <sup>Ab</sup> ± 0,50	75,14 <sup>Ba</sup> ± 0,39
0,230	78,62 <sup>Aba</sup> ± 0,44	74,45 <sup>Ba</sup> ± 0,46	78,45 <sup>Aba</sup> ± 0,37	75,03 <sup>Ba</sup> ± 0,38
0,770	78,19 <sup>Ab</sup> ± 0,61	74,89 <sup>Ba</sup> ± 0,39	78,12 <sup>Ab</sup> ± 0,43	75,12 <sup>Ba</sup> ± 0,43
1,300	79,25 <sup>Aa</sup> ± 0,38	75,42 <sup>Ba</sup> ± 0,48	79,03 <sup>Aa</sup> ± 0,49	74,56 <sup>Ba</sup> ± 0,51
2,300	78,68 <sup>Aba</sup> ± 0,42	75,38 <sup>Ba</sup> ± 0,51	77,98 <sup>Ab</sup> ± 0,55	74,38 <sup>Ba</sup> ± 0,49
3,000	78,54 <sup>Aba</sup> ± 0,46	75,01 <sup>Ba</sup> ± 0,49	78,36 <sup>Aba</sup> ± 0,31	75,21 <sup>Ba</sup> ± 0,56

Objaśnienia: <sup>\*</sup>w odniesieniu do próbek przed suszeniem; dane w postaci: średnia arytmetyczna (n = 6) ± odchylenie standardowe; średnie w danej kolumnie opatrzone różnymi małymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05); średnie w danym wierszu opatrzone różnymi wielkimi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05)

**Tabela 2.** Dynamika zmian zawartości jodu w ciągu 320 dni przechowywania suszy brokułowych wzbogaconych jodem

Od- miana brokułu	Stężenie jodu w roztwo- rze soli (mg/100 g)	Wskaźniki dynamiki zmian zawartości jodu podczas przecho- wywania (320 dni)				
		T <sub>25%</sub> (dni)	R <sup>2</sup>	RMSE	k	A <sub>0</sub> *
<b>KIO<sub>3</sub></b>						
Cezar	0,023	366,01	0,974	0,000	0,000	1,022
	0,230	367,57	0,975	0,003	-0,000	1,241
	0,770	363,20	0,963	0,011	-0,001	2,053
	1,300	377,73	0,970	0,016	-0,001	3,337
	2,300	365,06	0,965	0,032	-0,002	8,987
	3,000	373,86	0,972	0,036	-0,002	16,735
Sebastian	0,023	350,80	0,960	0,000	0,000	1,021
	0,230	365,65	0,971	0,003	-0,000	1,240
	0,770	360,68	0,971	0,008	-0,001	2,044
	1,300	370,48	0,973	0,013	-0,001	3,310
	2,300	357,11	0,972	0,024	-0,002	8,482
	3,000	367,88	0,972	0,030	-0,002	17,378
<b>KI</b>						
Cezar	0,023	329,40	0,984	0,000	0,000	1,021
	0,230	323,33	0,982	0,002	0,000	1,228
	0,770	325,71	0,975	0,010	-0,001	2,011
	1,300	329,57	0,979	0,014	-0,001	3,208
	2,300	327,53	0,979	0,026	-0,002	7,854
	3,000	320,47	0,970	0,042	-0,002	14,733
Sebastian	0,023	317,24	0,978	0,000	0,000	1,021
	0,230	324,82	0,987	0,002	0,000	1,227
	0,770	322,52	0,982	0,007	-0,001	2,018
	1,300	321,88	0,985	0,011	-0,001	3,165
	2,300	315,80	0,981	0,023	-0,002	7,870
	3,000	325,83	0,987	0,024	-0,002	14,120

Objaśnienia: \* A<sub>0</sub> – początkowa ilość jodu; k – stała zaniku

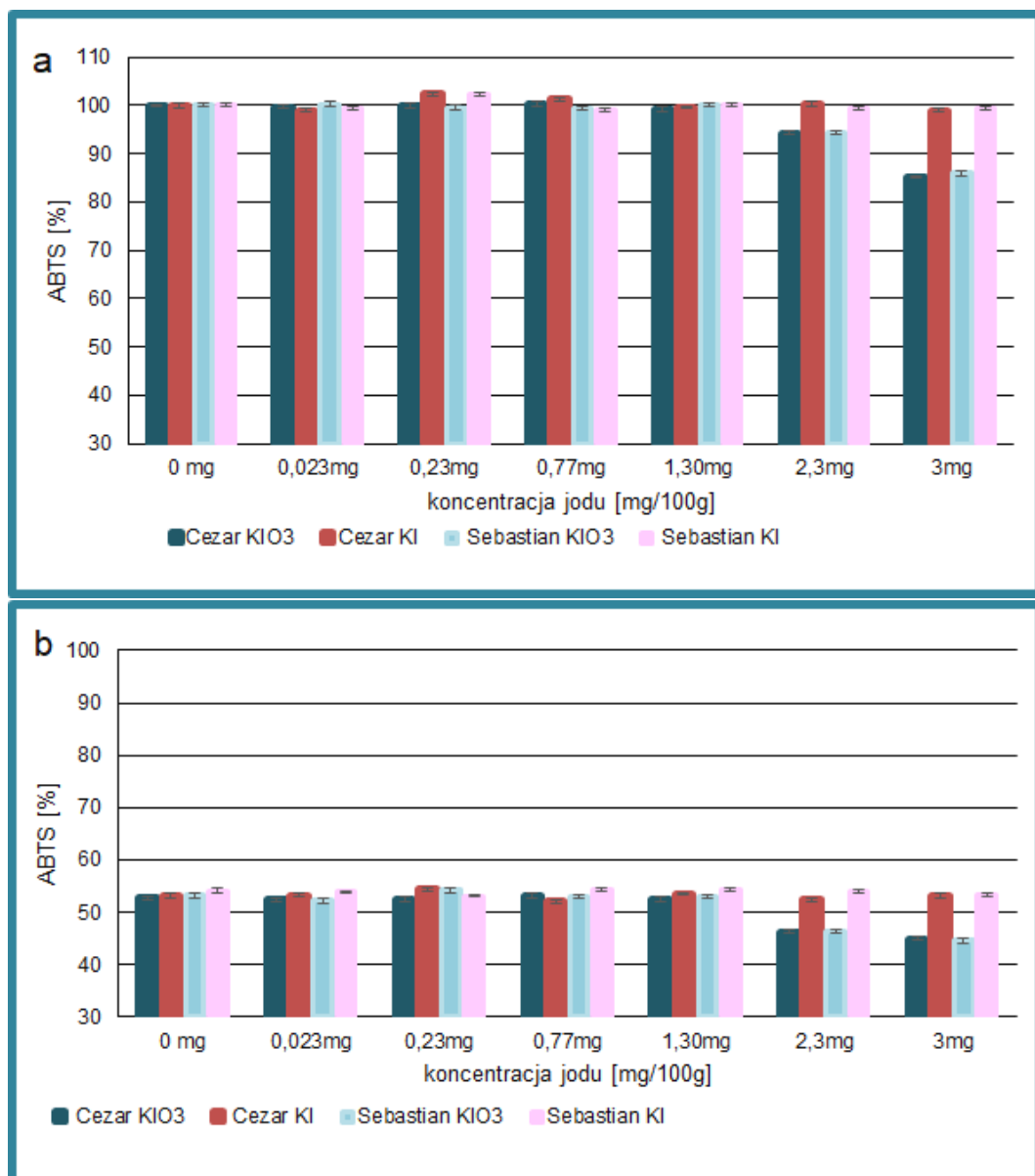
**Tabela 3.** Istotność statystyczna predyktorów (odmiany warzywa i stężenie jodu w roztworze soli) modeli kowariancji dla zmian zdolności neutralizacji wolnych rodników (ABTS\*\* i DPPH\*) w suszach brokułowych fortyfikowanych jodem bezpośrednio po suszeniu i po przechowywaniu przez 320 dni

Wariant		SS	df	MSE	F	p
<b>ABTS**</b>						
Próbki bezpośrednio po suszeniu						
odmiana brokułu	KIO <sub>3</sub>	0,31	1,00	0,30	0,02	0,88
	KI	0,20	1,00	0,20	0,10	0,74
stężenie jodu	KIO <sub>3</sub>	133,60	6,00	22,30	85,20	0,00
	KI	13,50	6,00	2,20	4,90	0,03
Próbki po przechowywaniu (320 dni)						
odmiana brokułu	KIO <sub>3</sub>	0,31	1,00	0,31	0,024	0,88
	KI	2,27	1,00	2,27	5,80	0,03
stężenie jodu	KIO <sub>3</sub>	158,04	6,00	26,34	104,20	0,00
	KI	0,92	6,00	0,15	0,18	0,97
<b>DPPH*</b>						
Próbki bezpośrednio po suszeniu						
odmiana brokułu	KIO <sub>3</sub>	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00
	KI	0,20	1,00	0,20	0,10	0,74
stężenie jodu	KIO <sub>3</sub>	507,60	6,00	84,60	447,50	0,00
	KI	13,50	6,00	2,20	4,90	0,03
Próbki po przechowywaniu (320 dni)						
odmiana brokułu	KIO <sub>3</sub>	0,90	1,00	0,90	0,06	0,82
	KI	2,27	1,00	2,27	5,80	0,03
stężenie jodu	KIO <sub>3</sub>	191,69	6,00	31,95	104,50	0,00
	KI	0,92	6,00	0,15	0,18	0,97

Objaśnienia: SS – sumy kwadratów; df – liczba stopni swobody; MSE – średnia suma kwadratów; F – wartość testu F; p – poziom prawdopodobieństwa

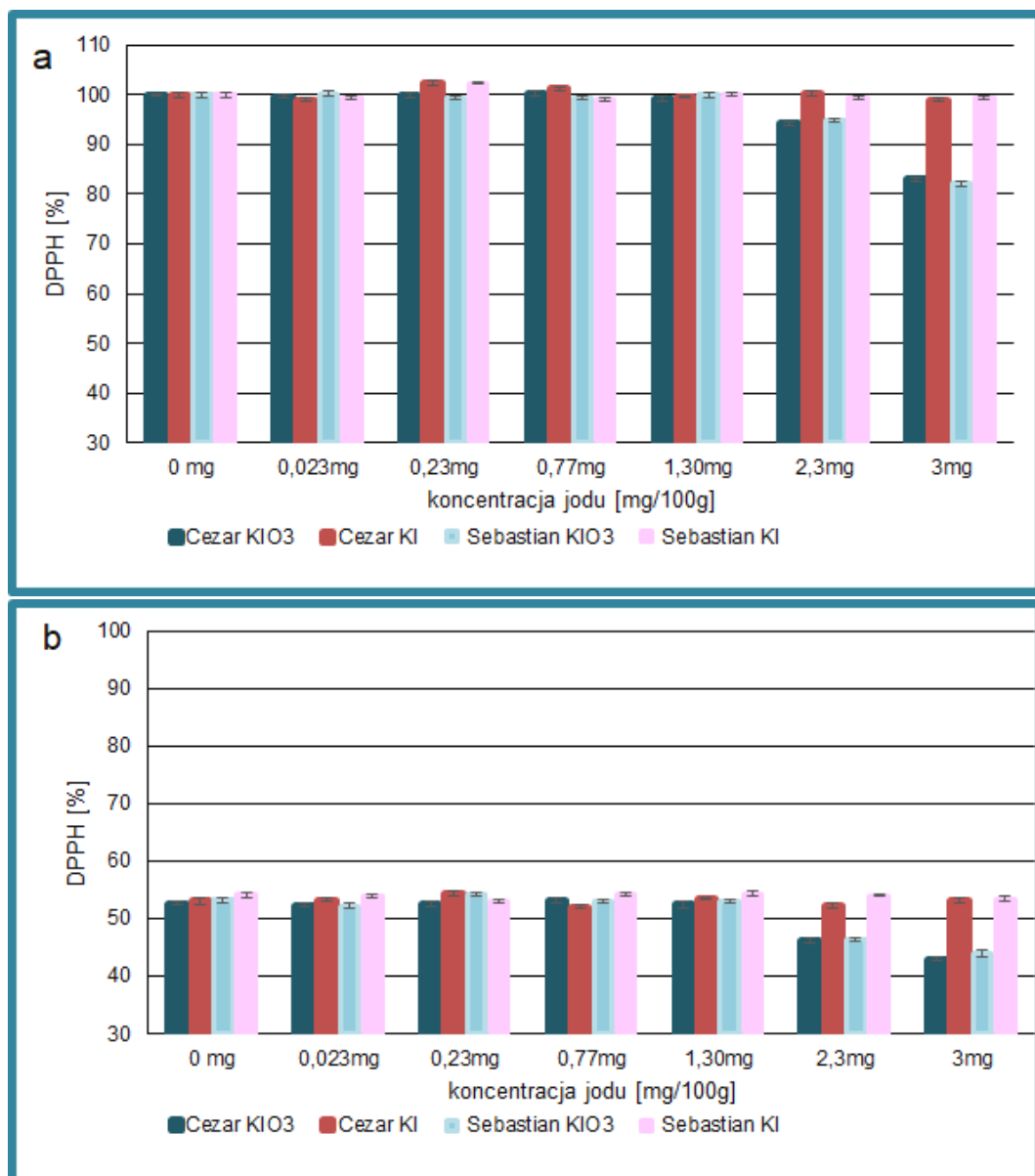
Wcześniejsze badania wykazały, że KI i KIO<sub>3</sub> mają odmienne właściwości, odpowiednio: anty- i prooksydacyjne. KI ma cechy reduktora, natomiast KIO<sub>3</sub> – utleniacza (Cao i in. 2015, Winger i in. 2008, Li i in. 2020). Według Milczarek i in. (2013) KIO<sub>3</sub> w stężeniach  $\geq 2,5$  mM zwiększał peroksydację lipidów w homogenatach tarczycy świń. Szkodliwe działanie KIO<sub>3</sub> narastało stopniowo od stężenia 2,5 mM do stężenia 10 mM. Obniżenie aktywności przeciwutleniającej może także mieć związek z podwyższoną zawartością witaminy C (Habib i in. 2023). Literatura przedmiotu wskazuje na wpływ wysokiego stężenia jodanu(V) na stymulowanie przemiany kwasu askorbinowego do kwasu dehydroaskorbinowego, co w konsekwencji prowadzi do utraty cennego przeciwutleniacza jakim jest kwas askorbinowy.

W przyszłych badaniach warto kontynuować niniejszą tematykę, np. w zakresie oceny interakcji jodu z innymi składnikami warzyw i związanych z tym skutków oksydacyjnych. Szczególną uwagę należy zwrócić na analizę związku pomiędzy różnymi profilami węglowodanowo-białkowymi warzyw wzbogaconych jodem a ich stabilnością przeciwutleniającą.



**Rysunek 1.** Zdolność do neutralizacji wolnych rodników (ABTS<sup>••</sup>) (wartości średnie) przez susze brokułowe niefortyfikowane oraz fortyfikowane jodem wprowadzanym w formie roztworów KI lub KIO<sub>3</sub> w zmiennych stężeniach: (a) bezpośrednio po suszeniu; (b) po przechowywaniu 320 dni





**Rysunek 2.** Zdolność do neutralizacji wolnych rodników (DPPH\*) (wartości średnie) przez susze brokułowe niefortyfikowane oraz fortyfikowane jodem wprowadzanym w formie roztworów KI lub KIO<sub>3</sub> w zmiennych stężeniach: (a) bezpośrednio po suszeniu; (b) po przechowywaniu 320 dni

#### 4. Podsumowanie

Wysoki odzysk jodu wprowadzanego do brokułów dwóch odmian i poddanych suszeniu oraz wysoka stabilność zawartości tego pierwiastka podczas przechowywania fortyfikowanych produktów czynią brokuły atrakcyjnym źródłem matrycy dla jodu, szczególnie w przypadku fortyfikacji przebiegającej z udziałem KIO<sub>3</sub>. W celu uzyskania możliwie

najwyższej zdolności brokułów wzbogacanych jodem do neutralizacji wolnych rodników sugeruje się wprowadzenie jodu w postaci roztworu  $KIO_3$  o stężeniu odpowiadającym zawartości w nim jodu nie większej niż 1,300 mg/100 g.

*Badania oraz publikacja zostały sfinansowane ze środków statutowych Katedry Nauk o Gastronomii i Żywności Funkcjonalnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (506.751.03.00).*

## Literatura

1. Cao X., Ma W., Liu L., Xu J., Wang H., Li X., Wang J., Zhang J., Wang Z., Gu Y. (2015). Analysis of potassium iodate reduction in tissue homogenates using high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 1-6.
2. Cebulak T., Kapusta I., Czernicka M. (2015). Wartość odżywcza i prozdrowotna brokułów. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 48(4), 660-666.
3. Chadare F. J., Idohou R., Nago E., Affonfere M., Agossadou J., Fassinou T. K., Kénou C., Honfo S., Azokpota P., Linnemann A. R., Hounhouigan D. J. (2019). Conventional and food-to-food fortification: An appraisal of past practices and lessons learned. *Food Science and Nutrition*, 7(9), 2781-2795.
4. Chanthilath B., Chavasit V., Chareonkiatkul S., Judprasong K. (2009). Iodine stability and sensory quality of fermented fish and fish sauce produced with the use of iodated salt. *Food and nutrition bulletin*, 30(2), 183-188.
5. Chu Y. H., Chang C. L., Hsu H. F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50, 561-566.
6. Dasgupta P. K., Liu Y., Dyke J. V. (2008). Iodine nutrition: iodine content of iodized salt in the United States. *Environmental Science and Technology*, 42(18), 7025.
7. de Escalada Pla M. F., Flores S. K., Genevois C. E. (2020). Innovative strategies and nutritional perspectives for fortifying pumpkin tissue and other vegetable matrices with iron. *Food Science and Human Wellness*, 9(2), 103-111.
8. Diosady L. L., Mannar V. M. G. (2000). Stability of iodine in iodized salt. In 8th World Salt Symposium, ed by Geertman RM, Elsevier, the Hague, 977-982.
9. Golob A., Novak T., Maršić N. K., Šircelj H., Stibilj V., Jerše A., Kroflič A., Germ M. (2020). Biofortification with selenium and iodine changes morphological properties of *Brassica oleracea L. var. gongylodes* and increases their contents in tubers. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 234-243.
10. Gonnella M., Renna M., D'Imperio M., Santamaria P., Serio F. (2019). Iodine biofortification of four brassica genotypes is effective already at low rates of potassium iodate. *Nutrients*, 11(451), 1-14.
11. Gudiño I., Martín A., Casquete R., Prieto M. H., Ayuso M. C., Córdoba M. G. (2022). Evaluation of broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) crop by-products as sources of bioactive compounds. *Scientia Horticulturae*, 304, 111284.

12. Habib M. A., Chowdhury A. I., Alam M. R., Rahman T. (2023). Commercially available iodized salts in Noakhali, Bangladesh: Estimation of iodine content, stability, and consumer satisfaction level. *Food Chemistry Advances*, 2, 100294.
13. Hatch-McChesney A., Lieberman H. R. (2022). Iodine and iodine deficiency: a comprehensive review of a re-emerging issue. *Nutrients*, 14(17), 3474.
14. Hwang, J. (2015). Antioxidant and anticancer activities of broccoli by-products from different cultivars and maturity stages at harvest. *Preventive Nutrition and Food Science*, 20(1), 8–14.
15. Iwan P., Stepniak J., Karbownik-Lewinska M. (2021). Pro-oxidative effect of KIO<sub>3</sub> and protective effect of melatonin in the thyroid-comparison to other tissues. *Life*, 11(6), 1-14.
16. Kreła-Kaźmierczak I., Czarnywojtek A., Skoracka K., Rychter A. M., Ratajczak A. E., Szymczak-Tomczak A., Ruchała M., Dobrowolska A. (2021). Is there an ideal diet to protect against iodine deficiency? *Nutrients*, 13(2), 1-15.
17. Krzepińko A., Zych-Wężyk I., Molas J. (2015). Alternative ways of enriching the human diet with iodine. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 9(2), 167-171.
18. Kuhne D., Wirth F., Wagner H. (1993). Iodine determination in iodized meat products. *Fleischwirtschaft*, 73(2), 175-178.
19. Li X., Cao X., Li J., Xu J., Ma W., Wang H., Wang J., Zhang Y. (2020). Effects of high potassium iodate intake on iodine metabolism and antioxidant capacity in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126575.
20. Mackerras D., Powers J., Boorman J., Loxton D., Giles G. G. (2011). Estimating the impact of mandatory fortification of bread with iodine on pregnant and post-partum women. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 65(12), 1118-1122.
21. Milczarek M., Stepniak J., Lewinski A., Karbownik-Lewinska M. (2013). Potassium iodide, but not potassium iodate, as a potential protective agent against oxidative damage to membrane lipids in porcine thyroid. *Thyroid Research*, 6(1), 1.
22. Moxon R. E., Dixon E. J. (1980). Semi-automatic method for the determination of total iodine in food. *Analyst*, 105, 344-352.
23. Olson R., Gavin-Smith B., Ferraboschi C., Kraemer K. (2021). Food fortification: The advantages, disadvantages and lessons from sight and life programs. *Nutrients*, 13(4), 1118.
24. Porter Y. (2012). Antioxidant properties of green broccoli and purple-sprouting broccoli under different cooking conditions. *Bioscience Horizons*, 5, 1-11.
25. Rana R., Raghuvanshi R. S. (2013). Effect of different cooking methods on iodine losses. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1212-1216.
26. Re R., Pellegrini N., Protegente A., Pannala A., Yang M. C., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

27. Shi H. (2004). Adding an oxidant increases the stability of iodine in iodized salt. *Food and Nutrition Bulletin*, 25(2), 137-141.
28. Syed Q. A. (2019). Nutritional and therapeutic importance of the pumpkin seeds. *Biomedical Journal of Scientific Technical Research*, 21(2), 15798-15803.
29. Syed R. U., Moni S. S., Khaled M., Break B., Khojali W. M. A., Jafar M., Alshammari M. D., Abdelsalam K., Taymour S., Saad K., Alreshidi M., Mohamed M., Taha E., Mohan S. (2023). Broccoli: A multi-faceted vegetable for health: an in-depth review of its nutritional attributes, antimicrobial abilities, and anti-inflammatory properties. *Antibiotics*, 12(7), 1157.
30. Szymandera-Buszka K., Piechocka J., Zaremba A., Przeor M., Jędrusek-Golińska A. (2021a). Pumpkin, cauliflower and broccoli as new carriers of thiamine compounds for food fortification. *Foods*, 10(3), 578.
31. Szymandera-Buszka K., Waszkowiak K., Kaczmarek A., Zaremba A. (2021b). Wheat dietary fibre and soy protein as new carriers of iodine compounds for food fortification - The effect of storage conditions on the stability of potassium iodide and potassium iodate. *LWT*, 137, 110424.
32. Waszkowiak K., Szymandera-Buszka K. (2005). Utilization preparations of connective tissue proteins as carriers of potassium iodide - studies of iodine retention during their storage. *Polish Journal of Human Nutrition and Metabolism*, 32, 1130-1134.
33. WHO (2022). Universal salt iodization and sodium intake reduction compatible, cost-effective strategies. Public Health Benefit; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1–10. <https://doi.org/Available> online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240053717> (dostęp 22 sierpnia 2022 r.).
34. WHO (2008). World Health Organization (2008). Salt as a vehicle for fortification. Report of a WHO Expert Consultation. Luxembourg, 21-22 March 2007.
35. Winger R. J., König J., House D. A. (2008). Technological issues associated with iodine fortification of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 19(2), 94–101.
36. Zaremba A., Cichoń N., Szymandera-Buszka K. (2022). Design of a plant product enriched with beetroot fortified with iodine. W M. Beszterda-Buszczak M. Przeor (Red.), *Żywność dzisiaj. Lokalna czy globalna, tradycyjna czy innowacyjna? Monografia pokonferencyjna* (s. 22–36). Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
37. Zaremba A., Gramza-Michalowska A., Pal K., Szymandera-Buszka K. (2023a). The Effect of a Vegan Diet on the Coverage of the Recommended Dietary Allowance (RDA) for Iodine among People from Poland. *Nutrients*, 15(5), 1163.
38. Zaremba A., Heś M., Jędrusek-Golińska A., Przeor M., Szymandera-Buszka K. (2023b). The antioxidant properties of selected varieties of pumpkin fortified with iodine in the form of potassium iodide and potassium iodate. *Foods*, 14(14), 2792.
39. Zaremba A., Waszkowiak K., Kmiecik D., Jędrusek-Golińska A., Jarzębski M., Szymandera-Buszka K. (2022). The selection of the optimal impregnation conditions of vegetable matrices with iodine. *Molecules*, 27(10), 1-18.

## **Antioxidant properties of broccoli fortified with iodine in the form of potassium iodide or potassium iodate**

### **Abstract**

The study aimed to investigate the use of broccoli as a carrier of iodine (KI and KIO<sub>3</sub>) at various concentrations (3.000; 2.300; 1.300; 0.770; 0.230 and 0.023 mg of iodine/100 g). It was hypothesised that the concentration and form of iodine influence the fortification effectiveness and broccoli's antioxidant activity. Broccoli varieties, i.e. Cezar and Sebastian, were used as a matrix for the iodine. The influence of storage conditions on the stability of iodine was tested during storage for 320 days at 21 ± 1 °C. After drying and 320 days of storage, all broccoli samples were taken to analyse antioxidant activity by neutralizing the DPPH radical and the ABTS cation radical.

The results showed a high recovery of the introduced iodine in broccoli varieties after drying and high iodine stability during storage, especially for KIO<sub>3</sub>. Statistical analysis confirmed a relationship between the forms and concentration of iodine and the ABTS cation radical and the DPPH radical test results. In the systems with iodine concentrations of up to 1.300 mg/100 g, the antioxidant activity did not change. However, a statistically significant decrease in free-radical scavenging was confirmed for broccoli varieties fortified with a KIO<sub>3</sub> at a concentration of 2.300 or 3.000 mg/100 g of iodine).

## **Recyklowalne papiery barierowe do pakowania żywności z zastosowaniem powłok polisacharydowych – porównanie wyników prób laboratoryjnych i przemysłowych**

Artur Wierzchowski<sup>1,2\*</sup>, Artur Bartkowiak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

<sup>2</sup>Yanko Sp. z o.o, Głogów Małopolski

<sup>3</sup>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych (CBIMO)

\*Autor korespondencyjny: a.wierzchowski@yanko.com.pl

### **Streszczenie**

W pracy przedstawiono innowacyjną metodę wytwarzania opakowań papierowych z naniesioną powłoką barierową o zwiększonej odporności na przenikanie pary wodnej, wody oraz tłuszczów. Otrzymano dwa rodzaje modyfikowanego papieru, zarówno w próbach laboratoryjnych, jak i przemysłowych, o docelowej gramaturze w zakresie 44-55 g/m<sup>2</sup>. Analiza właściwości fizyko-chemicznych, w tym barierowych, pozwoliła na krytyczne porównanie obu metod powlekania: laboratoryjnej vs. przemysłowej metody zadruku fleksograficznego. Modyfikowane papiery produkowane w warunkach przemysłowych cechowały się lepszymi właściwościami barierowymi, w tym ok. 5-krotnie większą barierowością na parę wodną oraz lepszym współczynnikiem olejoodporności. Odporność próbek na wnikanie tłuszczu zweryfikowano za pomocą testu KIT (ISO 16532-2-2007 „Paper and board — Determination of grease resistance – Part 2: Surface repellency test”) oraz możliwości otrzymania końcowych produktów w postaci zgrzewalnych torebek.

Opakowania papierowe z nałożonymi powłokami barierowymi mogą być poddane procesowi recyklingu mechanicznego w procesie rozwótkniania hydrotermicznego i zostać ponownie wykorzystane jako surowiec w papierniach. Mogą one stanowić również ekologiczny zamiennik dla pewnej grupy obecnie stosowanych, średnio barierowych klasycznych opakowań z trudno biodegradowalnych tworzyw sztucznych.

**Słowa kluczowe:** polimery naturalne, papier barierowy, powłoki barierowe, papier opakowaniowy, powlekanie fleksograficzne, procesy przemysłowe

### **1. Wprowadzenie**

Innowacyjne, recyklowalne materiały opakowaniowe, w postaci powierzchniowo modyfikowanego papieru za pomocą polimerów pochodzenia naturalnego o właściwościach barierowych zbliżonych do tworzyw sztucznych, mogą spowodować dywersyfikację stosowanych opakowań dedykowanych m.in. dla sektora produktów spożywczych. Firmy oferujące takie rozwiązania wzmocnią swoją pozycję na rynku, pozyskując nowych

klientów, jak również dotrą do szerszej grupy odbiorców (konsumentów), ułatwiając im właściwe zagospodarowanie odpadów. Takie działania są zgodne z zasadami spójnymi z Gospodarką w Obiegu Zamkniętym, Biogospodarką i założeniami dyrektywy dotyczącej tzw. Zielonego Ładu. Interakcje między składnikami żywności i ich ciągły kontakt z materiałem opakowaniowym mogą powodować zmiany jej wartości odżywczej i w związku z tym od nowoczesnych opakowań oczekuje się obojętności w stosunku do pakowanego produktu, odpowiedniej barierowości, wysokiej wydajności produkcji oraz niskich kosztów jednostkowych.

Barierowość na wilgoć, tlen, parę wodną oraz tłuszcze to główne wymagania dotyczące opakowań celulozowych (papier i karton), jakie są wykorzystywane w przemyśle spożywczym i gastronomii (Li i in. 2020). Ponieważ włókna celulozowe naturalnie mają właściwości hydrofilowe, biorąc pod uwagę dużą liczbę grupy hydroksylowych w jednostkach monomerycznych glukozy, woda (ze środowiska zewnętrznego lub z pakowanej żywności) może być łatwo absorbowana przez opakowania papierowe i powodować pogorszenie właściwości fizycznych, w tym mechanicznych oraz organoleptycznych - zarówno samego opakowania, jak i pakowanego produktu.

Porowata mikrostruktura sieci włókien celulozowych ogranicza dobre właściwości barierowe materiałów papierniczych i ułatwia przepuszczanie wilgoci przez strukturę papieru. Można ją dobrze zdefiniować za pomocą dwóch mechanizmów dyfuzji, tj. dyfuzji pary wodnej przez pory i dyfuzji skondensowanej wody przez ściany komórek włóknistych (Mohit i in. 2020). W celu zapewnienia odporności opakowań celulozowych na wilgoć, gazy i tłuszcze, stosuje się różnego rodzaju technologie, m.in. specjalistyczną obróbkę chemiczną, powlekanie polimerem przez wytlaczanie i laminowanie (Mika i in. 2006). Cienkie powłoki funkcjonalne, w tym barierowe, nie mogą być nakładane na papier i tekturę za pomocą konwencjonalnych maszyn papierniczych i wymagają głównie specjalistycznych maszyn „konwertujących”, które mogą nakładać powłoki za pomocą technik cienkowarstwowego powlekania termoplastycznego ze stopu, powlekania układem rozpuszczalnikowym lub ekstruzji gotowego wyboru. Dopiero wstępnie zmodyfikowany powierzchniowo materiał poddaje się zadrukowi i wycinaniu do ostatecznej postaci gotowego wykroju opakowania (Nivin i in. 2020).

W ramach własnych badań prowadzone są prace nad wykorzystaniem konwencjonalnych maszyn drukujących służących do powlekania papieru, przy jednoczesnej możliwości zastosowania bezpośredniego zadruku. Wykorzystanie tej samej techniki dla obu procesów może prowadzić do dużych oszczędności czasu i zasadniczego obniżenia kosztów produkcji. Poprawa niewystarczających właściwości barierowych, którymi charakteryzuje się podatny i przyjazny biodegradacji niemodyfikowany materiał uzyskany z celulozy (np. papier), ma na celu ograniczenie skłonności do wnikania i przenikania tlenu, cieczy, pary wodnej i lotnych substancji zapachowych do wnętrza opakowania, a tym samym zabezpieczenie produktu przed niekorzystnymi zmianami jakościowymi.

Obecnie wciąż poszukuje się alternatywnych rozwiązań dla kompozytów celulozowych z tworzywami termoplastycznymi. Przykładem takiego rozwiązania może być układ papier/polietylen (PE) lub tektura wielowarstwowa, zawierające oprócz kompozytu celulozowego warstwy PE i aluminium, polimery biodegradowalne np. rozpuszczalne w wodzie polisacharydy (Nechita i in. 2020), które mogą ulegać procesom rozkładu podczas recyklingu. Polisacharydy mogą zastąpić polimery syntetyczne w powłokach papieru, dedykowanych do bezpośredniego pakowania wyrobów spożywczych, ponieważ z jednej strony są one biodegradowalne i nietoksyczne, a z drugiej mają zdolność tworzenia filmu o dobrym powinowactwie do podłoża celulozowego. Jednocześnie mogą one stanowić bardzo dobrą barierę dla gazów, takich jak tlen i azot, aromatów i lipidów, a także mają pozytywny wpływ na wytrzymałość mechaniczną (Rastogi i in. 2015). Powszechnie dostępnym i niedrogim surowcem pochodzenia roślinnego jest skrobia, która jest wykorzystywana jako biododatek w przemyśle papierniczym, zarówno do zastosowań na mokro w masie papierniczej, jak i powierzchniowo. Jej typowa struktura chemiczna składa się z liniowej krystalicznej amylozy o budowie poli- $\alpha$ -1,4-d-glukopiranozydu oraz rozgałęzionej amylopektyny składającej się jednocześnie (w zmiennych proporcjach) z  $\alpha$ -1,4-d-glukopiranozydu oraz z  $\alpha$ -1,6-d-glukopiranozydu w zależności od źródła pochodzenia. Skrobia w swojej natywnej postaci może być stosowana jako środek zaklejający (w prasie zaklejającej maszyny papierniczej). Właściwości skrobi natywnych ograniczają ich wykorzystanie w przemyśle - zarówno spożywczym, jak i technicznym. Z tego właśnie powodu skrobię natywną poddaje się procesom modyfikacji fizycznej, chemicznej lub enzymatycznej, nadając jej pożądane właściwości reologiczne, które wpływają na jej rozpuszczalność, teksturę oraz zdolność do kleikowania w niskich temperaturach. Skrobia po takich modyfikacjach może być stosowana jako dodatek do powlekania powierzchniowego ze względu na swoje doskonałe zdolności powłokotwórcze, przy jednocześnie zmodyfikowanej budowie chemicznej i/lub strukturze molekularnej umożliwiającej otrzymanie roztworów wodnych o wyższej zawartości suchej masy przy stosunkowo niskiej lepkości. Skrobia do tych celów jest pozyskiwana z roślin, takich jak ziemniak, kukurydza, pszenica, tapioka czy ryż (Cuhna i in. 2010, Gabor i in. 2012).

Chemiczna modyfikacja skrobi polega głównie na reakcjach reaktywnych substancji modyfikujących z grupami hydroksylowymi jednostek glukozy lub reakcji utlenienia. Miernikiem tego procesu jest stopień podstawienia (z ang. DS - degree of substitution), który określa liczbę wprowadzonych grup funkcyjnych w przeliczeniu na jedną jednostkę glukozy, bez względu na położenie grupy funkcyjnej (Chojnacka 2014).

Jedną z chemicznych metod modyfikacji skrobi jest estryfikacja, która polega na reakcji z różnymi związkami np. kwasów organicznych i nieorganicznych (Sikorski 2002). Niestety tego rodzaju pochodne najczęściej istotnie nie poprawiają właściwości hydrofobowych i barierowych. Skrobia, ze względu na swoją złożoną budowę makromolekularną, posiada zdolność do tworzenia kompleksów inkluzyjnych z substancjami hydrofobowymi, w



wyniku czego na drodze obróbki hydrotermicznej można otrzymać układy o odmiennych właściwościach fizykochemicznych (Fanta i in. 1999, Singha i in. 2022).

Ze względu na kruchość materiału natywnego, powłoki skrobiowe nie mają odpowiedniej elastyczności i właściwości mechanicznych dla efektywnego samodzielnego stosowania ich w opakowaniach. Właściwości te można poprawić poprzez plastyfikację innymi niskocząsteczkowymi substancjami, modyfikację chemiczną lub fizyczną, obróbkę enzymatyczną lub tworzenie wielomateriałowych kompozytów (Talia i in. 2007).

Aby zredukować międzycząsteczkowe wiązania wodorowe łańcuchów polimerowych odpowiedzialnych m.in. za sztywność kompozytów skrobiowych oraz zapewnić dobrą stabilność i elastyczność skrobi, jako plastyfikatory stosuje się glicerol i sorbitol. Jednak ze względu na problemy związane z lepkością roztworu oraz długotrwałym tworzeniem się powłoki i jej niską odpornością na retrogradację (wtórne formowanie heterogenicznych domen), uplastyczniona termoplastyczna skrobia jest bardzo rzadko stosowana do modyfikacji powierzchniowej papieru.

Zarówno obniżenie przepuszczalności dla pary wodnej, jak i poprawę właściwości barierowych dla tlenu przez filmy skrobiowo-glicerynowe można uzyskać poprzez połączenie ich z innymi biotworzywami np. polikaprolaktonem (stężenie powyżej 20%) (Myllymaki i in. 1998).

Właściwości opakowaniowe folii skrobiowych można poprawić poprzez zastosowanie odpowiednich mieszanin wieloskładnikowych tj. zastosowanie kwasu cytrynowego i żelatyny. W swoich badaniach Kumar i in. (2010) wykazali, że modyfikowane filmy skrobiowe z dodatkiem niewielkiej ilości żelatyny wykazują znaczną poprawę właściwości mechanicznych. Natomiast zbyt wysoka zawartość żelatyny skutkowałą zwiększeniem szybkości migracji pary wodnej, rozpuszczalności, wskaźnika pęcznienia i wchłaniania wilgoci. Co więcej, zdjęcia mikroskopowe SEM tych filmów potwierdziły, że żelatyna i kwas cytrynowy poprawiają właściwości strukturalne filmu, takie jak zwartość, porowatość i jednorodność struktury (Kumar i in. 2010).

W przypadku wykorzystania skrobi do formowania powłok papierniczych najczęstszą stosowaną praktyką na skalę przemysłową jest chemiczne utlenianie skrobi, co prowadzi do zmniejszenia długości łańcuchów i obniżenia masy cząsteczkowej utlenionej skrobi. Zmniejsza to lepkość układu powlekającego, przy jednoczesnym możliwym zwiększeniu zawartości suchej masy, co zdecydowanie poprawia ekonomikę procesu modyfikacji. Reakcja acetylacji jest jednym z najlepszych sposobów zmniejszenia higroskopijności skrobi. Dotychczas dużą skuteczność w zastosowaniu w powłokach papierniczych miały pochodne skrobi, takie jak: skrobia acetylowana, skrobia kationowa i hydroksypropylowana. Na papierze siarczanowym zastosowano powłoki ze skrobi acetylowanej, co skutkowało znacznym zmniejszeniem nasiąkliwości wody i przepuszczalności pary wodnej oraz poprawą właściwości barierowych dla gazów i związków zapachowych, przy zachowaniu i poprawie jakości żywności podczas przechowywania (Khwaldia i in. 2019).

Aby poprawić hydrofobowość skrobi, stosowano również procesy modyfikacji fizyczno-chemicznej. W literaturze (Cuhna i in. 2010, Bastos i in. 2009) przedstawiono sposób zmniejszenia wrażliwości na wodę warstw skrobi kukurydzianej poprzez obróbkę plazmą z wykorzystaniem sześćfluorku siarki (SF<sub>6</sub>). Uzyskane wyniki potwierdzają, że na efektywność wbudowywania fluorku i siarki ma wpływ moc zastosowanej plazmy. Zatem wraz ze wzrostem czasu obróbki plazmą, kąt zwilżania powierzchni modyfikowanego papieru wzrasta, osiągając wartość bliską 140° (co świadczy o bardzo niskiej zwilżalności takiej powłoki przez wodę). Co więcej, ta maksymalna hydrofobizacja wykazuje stabilne zachowanie w czasie. Jednakże należy w tym przypadku zwrócić uwagę na zastosowanie związków fluoru, które obecnie nie są rekomendowane w większości procesów otrzymywania czy modyfikacji materiałów opakowaniowych, w tym celulozowych.

Johansson i in. (2012) opisali inny sposób poprawy hydrofobowości skrobi, przy zastosowaniu w powłokach papierowych. Polega ona na dodaniu do skrobi zawiesiny pigmentów mineralnych (rozmaitych glinokrzemianów) o budowie płytkowej, co ostatecznie zapewnia dobre właściwości barierowe dla wody, oleju i powietrza oraz utrzymanie świeżości pakowanych produktów.

Potencjał skrobi w powłokach papierniczych jest związany z jej zdolnością tworzenia stabilnych dyspersji/emulsji ze związkami o właściwościach barierowych, takich jak nanoglinki, mikro- i nanowłóknista celuloza lub aktywne przeciwdrobnoustrojowo nanocząstki np. ZnO, MgO czy TiO<sub>2</sub>. Jednocześnie, w przypadku skrobi jako jednego z niewielu tanich w produkcji biopolimerów, jest możliwe dostosowanie jej właściwości reologicznych do potrzeb powlekania fleksograficznego poprzez procesy kontrolowanej hydrolizy lub reakcji podstawienia. W tym przypadku lepkość kompozycji powłokotwórczej przeznaczonej do nanoszenia techniką zadruku fleksograficznego, określana za pomocą Kubka Forda 4, nie powinna być większa niż 20-25 sekund/100 ml roztworu, przy jednoczesnej wysokiej zawartości suchej masy powyżej 10-15% wag. tak aby było uzasadnione ekonomicznie suszenie takich powłok, szczególnie w ostatnim okresie, przy zasadniczym wzroście ceny nośników energii.

Celem pracy jest charakterystyka procesu wytwarzania innowacyjnych papierów barierowych na bazie skrobi gwarantujących otrzymanie roztworów o wysokiej zawartości suchej masy zarówno w procesach w warunkach laboratoryjnych, jak i przemysłowych. Docelowo otrzymane materiały mogą mieć zastosowanie w opakowalnictwie wybranej grupy artykułów spożywczych o krótkim okresie przydatności do spożycia, w opakowaniach formowanych na etapie zakupu produktu spożywczego przez konsumenta np. świeże pieczywo, wędlina czy sery.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Metody badań**

W pracy, po konsultacji z producentami typowych papierów i opakowań papierowych przeznaczonych do bezpośredniego pakowania produktów spożywczych w sklepach,

przyjęto następujące założenia dotyczące stosowanych papierów i kompozycji powłokotwórczych do modyfikacji w procesach zadruku fleksograficznego papieru niemodyfikowanego: gramatura papieru – 35-42 g/m<sup>2</sup>, właściwości powierzchniowe - szorstkość w zakresie 70-280 ml/min; produkt certyfikowany i dopuszczony do bezpośredniego kontaktu z żywnością.

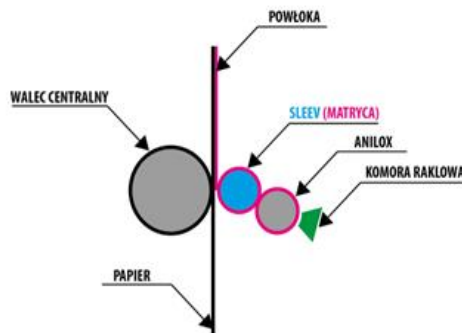
Dla projektowanych do zastosowania substancji/kompozycji powłokotwórczych:

- roztwór/dyspersja wodna o odpowiedniej lepkości (Kubek Forda) – ok. 27-33 sek.;
- wysoka zawartość suchej masy w zakresie 45-55% wag.;
- dobre właściwości powłokotwórcze podczas suszenia powłok w temperaturze ok. 60 °C;
- wymagana gramatura nanoszonej warstwy mokrej powłoki w zakresie 4,5-12 g/m<sup>2</sup>.

Zastosowano następujące warunki procesu powlekania/zadruku fleksograficznego:

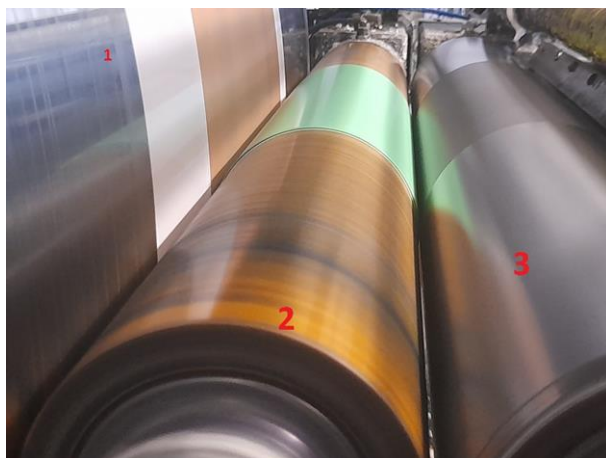
- aniloxo o zdolności transferu 14-18 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> (aniloxo 60 LCM, 70 LCM, prędkość w zakresie 80-120 m/min);
- polimerowy lub gumowy wałek bezkońcowy (Apla);
- tunel suszący oraz suszenie międzyregistrowe o wysokiej zdolności odparowania wody;
- możliwość powlekania wielowarstwowego - wpływ na końcowe parametry wytwarzanego produktu.

Zastosowana w procesie przemysłowym metoda fleksograficznej modyfikacji powierzchni papieru nie różni się znacząco od typowych techniki drukowania (rys. 1).



**Rysunek 1.** Schemat metody powlekania/zadruku fleksograficznego (źródło własne)

Jest to technika druku bezpośredniego rotacyjnego przy zastosowaniu form drukowych w postaci matryc o dużej elastyczności. W zespole powlekającym na formę drukową umieszczoną na cylindrze formowym (2) nanoszona jest warstwa powłokotwórcza za pomocą wałka rastrowego (3) (fot. 1).



**Fotografia 1.** Proces powlekania papieru KRAFT (szary) – transfer roztworu powłokotwórczego za pomocą matryc fotopolimerowych, które przenoszą kompozycję powłokotwórczą na nośnik celulozowy (źródło własne)

Ilość nakładanej powłoki określona jest ściśle parametrami zastosowanego wałka. Warstwa kompozycji powłokotwórczej przenoszona jest na podłoże pod ciśnieniem wytwarzanym pomiędzy cylindrem formowym i dociskowym (fot. 1). Wielkość ciśnienia musi być precyzyjnie dobrana do twardości formy i gładkości podłoża. Istotnym zagadnieniem z punktu widzenia ilości transferowanego materiału powłokotwórczego, jest jednorodność powierzchni przenoszącej, brak jakichkolwiek oznak jej zużycia oraz obecności ciał obcych osiadających na niej. Ma to ogromne znaczenie dla grubości nanoszonej powłoki oraz zachowania jej jednolitej struktury. W przypadku zadruku papieru, dla otrzymania zadowalających właściwości barierowych często istnieje konieczność zadruku wielowarstwowego.

## 2.2. Materiały powłokotwórcze

W celu wyboru odpowiedniego kompozytu powłokotwórczego o pożądanych właściwościach barierowych, zweryfikowano szereg substancji do modyfikacji powierzchniowej papieru. Związki te podzielono na dwie zasadnicze grupy.

### I) Komercyjne powłoki barierowe

Aby dana substancja komercyjna mogła być wykorzystana w procesie przemysłowym z zastosowaniem powlekania fleksograficznego na urządzeniach do zadruku wstęgowego papieru, musi ona spełniać następujące kryteria:

- mieć bardzo wysoką suchą masę, najlepiej na poziomie 45-55%;
- być dyspersją wodną lub układem z dominującym udziałem wody zawierającą jako rozpuszczalnik organiczny etanol;
- mieć możliwość wysuszenia utworzonej powłoki w temperaturze max. 80 °C, przy nanoszeniu warstwy gwarantującej odpowiednią barierowość powłoki;

- tworzyć powłokę barierową wobec wody oraz tłuszczu, o zakresie świadczącym o zdecydowanej poprawie w stosunku do papieru niemodyfikowanego;
- być dopuszczoną do kontaktu z żywnością;
- musi mieć zdolność do zgrzewu na powierzchni A-A (takie określenie powierzchni oznacza zgrzew między dwoma powierzchniami powleczonymi).

Produkt wykonany w postaci papieru powlekanego jako całość powinien wykazywać zdolność do recyklingu materiałowego w procesie roztwarzania hydrotermicznego.

## II) Własne układy powłokotwórcze

W przypadku własnych układów powłokotwórczych, ważnymi kryteriami decydującymi o wyborze są:

- zdolność do tworzenia jednolitych powłok w trakcie nanoszenia i po procesie suszenia;
- odpowiednia lepkość otrzymywanych roztworów/zawiesin powłokotwórczych umożliwiającą zastosowanie procesu druku fleksograficznego;
- możliwość rozpuszczenia danego polisacharydu w zimnej wodzie w stosunkowo krótkim czasie.

Do wstępnych badań weryfikacyjnych w warunkach laboratoryjnych wykorzystano skrobie charakteryzujące się możliwością otrzymania układu o wysokiej zawartości suchej masy, tzn. > 15-20% wag., przy jednoczesnej lepkości pozwalającej na zastosowanie procesu zadruku fleksograficznego. Były to:

- skrobia natywna – kukurydziana (Cargill);
- modyfikowana skrobia kukurydziana woskowa (Ingredion);
- sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego - tapiokowa (skrobia modyfikowana E 1450 (Ingredon), określana w dalszej części pracy mianem OSA).

W badaniach wykorzystano następujące substancje pomocnicze w układach powłokotwórczych wykorzystanych do modyfikacji powierzchniowej papieru:

- sorbitol (Cargill, Niemcy) jako plastyfikator;
- $\beta$ -cyklodekstrynę (Alfa Aesar) jako substancję tworzącą molekularne pułapki inkluzyjne dla substancji hydrofobowych;
- bentonit sodowy (Zembiel, Polska) jako napełniacz mineralny poprawiający właściwości barierowe dla gazów oraz właściwości mechaniczne;
- karboksymetylocelulozę, stosowaną w przemyśle spożywczym jako klej cukierniczy.

Kompozycję powłokotwórczą przygotowano poprzez rozpuszczanie w zimnej wodzie wymienionych składników, w ustalonych proporcjach (ze względu na charakter poufny prowadzonych prac nie zostały podane dane o udziale poszczególnych składników w kompozycji). Docelowo w wyniku mieszania wszystkich składników za pomocą mieszadła mechanicznego IKA o częstotliwości 400 obr/min przez czas 60 minut otrzymano dyspersję wodną o zawartości suchej masy na poziomie 20%, z zachowaniem lepkości kompozycji na poziomie 27-33 sekund, mierzonej kubkiem Forda 4 mm.

Dla materiałów kontrolnych (niemodyfikowanych) oraz otrzymanych modyfikowanych powierzchniowo papierów przeprowadzono oznaczenia następujących parametrów:

- oznaczenie gramatury papieru wg EN ISO 536: 2012,
- odporność próbek na wnikanie tłuszczu za pomocą testu KIT wg ISO 16532-2-2007,
- oznaczenie absorpcji wody wg PN-EN ISO 535:2014,
- Szybkość przenikania pary wodnej w wilgotności 50% została oznaczona zgodnie z metodyką opisaną w normach PN ISO 2528:2000 oraz DIN 53122-1.

### 3. Wyniki

Na podstawie wyników oceny właściwości fizyko-chemicznych dla papierów surowych (niemodyfikowanych) (tab. 1) oraz dla papierów modyfikowanych w warunkach laboratoryjnych (tab. 2) za pomocą powlekania, z wykorzystaniem prętów ryflowanych Mayera o teoretycznej grubości nanoszonej mokrej warstwy ok. 12  $\mu\text{m}$ , jako najlepszą do dalszych badań wybrano kompozycję na bazie skrobi modyfikowanej typu OSA (ze względu na szybkość tworzenia dyspersji wodnej).

**Tabela 1.** Parametry wyjściowe papierów surowych

Papier	Gramatura ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	WVTR ( $\text{g}/\text{m}^2 \times 24 \text{ h}$ )	COBB <sub>60</sub> ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	Test KIT
Kraft prążek	39,7	497, 0	27,4	1
Biały	39,2	584,0	23,0	1

**Tabela 2.** Parametry papierów powlekanych w procesie laboratoryjnym dla kompozycji na bazie skrobi modyfikowanej typu OSA

Papier	Gramatura ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	WVTR ( $\text{g}/\text{m}^2 \times 24 \text{ h}$ )	COBB <sub>60</sub> ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	Test KIT
Kraft prążek	55	<100	1-5,2	>6
Biały	46	<100	1-2,4	>6

Na podstawie wyników przedstawionych w tabeli 2, przeprowadzono próby procesu produkcyjnego modyfikacji papierów zakładzie produkcyjnym Yanko Sp. z o.o, z wykorzystaniem maszyny drukującej Varga Flexo. W tym celu przygotowano odpowiednią ilość kompozycji powłokotwórczej o zawartości suchej masy ok. 20% wag. w ilości 50 litrów oraz podobną ilość komercyjnej kompozycji powłokotwórczej dedykowanej do zabezpieczenia papieru przed przenikaniem wilgoci i tłuszczu, jednocześnie posiadającej zdolność termozgrzewania.

Powlekanie przemysłowe prowadzono na dwóch zespołach drukujących, z wykorzystaniem matryc aplowych oraz wałków aniloxowych o liniaturach: 60 LCM oraz 70 LCM, wraz z zastosowaniem suszenia między rejestrowego, za pomocą gorącego powietrza o temperaturze ok. 40 °C.

Pierwszą nakładaną powłoką był primer polisacharydowy (w celu zamknięcia i wygładzenia powierzchni papieru), drugą powłoką (zewnątrzną) substancja komercyjna

termozgrzewalna. Dla prędkości powlekania 80 m/min optymalna temperatura suszenia wynosiła 80 °C. Przygotowane nawoje próbne modyfikowanego powierzchniowo papieru poddano testom KIT i testom szybkości wnikania COBB w czasie 60 sekund oraz oznaczono szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) (tab. 3).

**Tabela 3.** Parametry papierów powlekanych w procesie przemysłowym, z wykorzystaniem techniki zadruku fleksograficznego

Papier powlekany	Gramatura (g/m <sup>2</sup> )	WVTR (g/m <sup>2</sup> × 24 h)	COBB <sub>60</sub> (g/m <sup>2</sup> )	Test KIT
Kraft prążek	44,8	109,0	11,0	9
Biały	44,3	85,0	4,0	10

Proces powlekania przemysłowego badanych papierów metodą fleksograficzną wpłynęła na zwiększenie barierowości dla wszystkich wyżej wymienionych czynników, w porównaniu do papieru niemodyfikowanego. Bezpośrednie porównanie papierów modyfikowanych w warunkach laboratoryjnych vs. przemysłowych wskazuje na ok. 2-krotnie gorszą barierowość dla pary wodnej (wyższe wartości WVTR) oraz od 2 do 5 razy mniejszą odporność na wnikanie wody (Coob<sub>60</sub>). Co ciekawe, w przypadku powlekania przemysłowego przy od 2 do 4-krotnie mniejszej gramaturze nanoszonej powłoki, otrzymano zdecydowanie lepszą odporność modyfikowanej powierzchni na wnikanie oleju. Może to świadczyć o zdecydowanie bardziej jednorodnej powłoce skrobiowej, uzyskanej w procesie powlekania fleksograficznego. W przypadku papieru białego zastosowany proces modyfikacji powierzchniowej wpłynęła na wzrost barierowości względem tłuszczu i wody (tab. 3), przy jednocześnie niższej sumarycznej gramaturze nakładanych powłok. Prawdopodobnie jest to związane z lepszym zaklejeniem powierzchni papieru natywnego, dzięki niższej podatności na wnikanie/impregnację w głąb struktury papieru powlekanej wodnej kompozycji (co potwierdza niższa wartość Coob<sub>60</sub> dla niemodyfikowanego papieru białego).

#### 4. Wnioski

Przeprowadzone badania potwierdziły:

- możliwość stosowania techniki fleksograficznej do nakładania powłok barierowych w postaci wodnych roztworów dyspersji biopolimerowych w warunkach przemysłowych, na nośniki celulozowe, w postaci papieru o gramaturze w zakresie od 38 gr/m<sup>2</sup> do 40 gr/m<sup>2</sup>;
- zwiększoną odporność wytworzonego produktu na przenikanie wody i tłuszczu;
- wytworzony półprodukt w postaci modyfikowanego papieru z dodatkową zewnętrzną warstwą termozgrzewalną umożliwia formowanie torebek lub woreczków, służących do produkcji opakowań dla wybranych grup produktów spożywczych;
- zaproponowane opakowanie, ze względu na możliwość poddania go recyklingowi materiałowemu, ma istotne znaczenie jako alternatywna propozycja cienkowarstwowych opakowań z tworzyw sztucznych dla takich produktów jak: szybko zbywalne produkty garmażeryjne (wędliny), nabiał (sery) oraz pieczywo.

*Badania zrealizowane w ramach doktoratu wdrożeniowego finansowanego z programu „Doktorat Wdrożeniowy IV” Ministerstwa Edukacji i Nauki.*

## Literatura

1. Bastos D. C., Santos A. E. F., da Silva M. L. V. J., Simao R. A. (2009). Hydrophobic corn starch thermoplastic films produced by plasma treatment. *Ultramicroscopy*, 109, 1089-1093.
2. Chojnacka M. (2014). Hydrofobizacja skrobi za pomocą kwasów tłuszczowych w kierunku otrzymywania substratów do modyfikacji opakowań celulozowych do żywności, Rozprawa doktorska, ZUT.
3. Cunha A. G., Gandini A. (2010). Turning polysaccharides into hydrophobic materials: A critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates. *Celulose*, 17, 1045-1065.
4. DIN 53122-1-2001-08. Determination of the water vapour transmission rate of plastic film, rubber sheeting, paper, board and other sheet materials by gravimetry.
5. EN ISO 536:2012. Papier i tektura oznaczanie gramatury.
6. Fanta G. I. Shogren R. L., Salch J. H. (1999). Steam jet cooking of high-amylose starch-fatty acid mixtures. An investigation of complex formation. *Carbohydrate Polymers*, 47, 245-252.
7. Fortuna T., Rożnowski J. (2002). Skrobie modyfikowane chemicznie, ich właściwości i zastosowanie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (31),16-29.
8. Gabor (Naiaretti) D., Tita O. (2012). Biopolymers used in food packaging: A review. *Acta Universitatis Cibiniensis - Series E: Food Technology*, 16, 3-19.
9. ISO 16532-2-2007. Paper and board — Determination of grease resistance — Part 2: Surface repellency test.
10. Johansson C., Brass J., Mondragon I., Nechita P., Plackett D., Simon P., Gregor Svetec, D., Virtanen S., Baschetti M. G., Breen C., Clegg F., Aucejo S. (2012). Renewable fibers and bio-based materials for packaging applications - A review of recent developments. *BioResources*, 7, 2506-2552.
11. Khwaldia K., Arab-Tehrany E., Desobry S. (2010). Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 82-91.
12. Kumar R., Ghoshal G., Goyal M. (2019). Synthesis and functional properties of gelatin/CA–starch composite film: excellent food packaging material. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 1954-1965.
13. Li Q., Wang S. (2020). The application of polysaccharides and their derivatives in pigment, barrier, and functional paper coatings. *Polymers*, 12(8), 1837.
14. Vaha-Nisi M., Kervinen K., Savolainen A., Egolf S. (2006). Hydrophobic polymers as barrier dispersion coatings. *Journal of Applied Polymer Science*, 101(3), 1958-1962.
15. Sharma M., Aguado R., Murtinho D., Valente A. J. M., Mendes De Sousa A. P., Ferreira P.J.T. (2020). A review on cationic starch and nanocellulose as paper coating components. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 578-598.



16. Myllymäki O., Myllärinen P., Forssell P., Suortti T., Lähteenkorva K., Ahvenainen R., Poutanen K. (1998). Mechanical and permeability properties of biodegradable extruded starch/polycaprolactone films. *Packaging Technology and Science*, 11, 265-274.
17. Nechita P., Roman M. (2020). Review on Polysaccharides Used in Coatings for Food Packaging Papers. *Coatings*, 10(6), 566.
18. Nivin M. A. (2020). Packaging paper with improved mechanical and oil absorption properties based on novel ingredients. *Packaging Technology and Science*, 33(8), 303-320.
19. PN-EN ISO 535:2014-05. Papier i tekstura. Oznaczanie absorpcji wody. Metoda Cobb60.
20. PN ISO 2528:2000. Oznaczanie szybkości przenikania pary wodnej, metoda wagowa (miscozkowa).
21. Rastogi K. V., Samyn P. (2015). Bio-based coatings for paper applications. *Coatings*, 5, 887-930.
22. Shen J., Fatehi P., Yonghao N. (2014). Biopolymers for surface engineering of paper-based products. *Cellulose*, 21, 3145-3160.
23. Sikorski Z. (2002). *Chemia żywności*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
24. Singh J., Singh N., Saxena S. K. (2002). Effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. *Journal of Food Engineering*, 52(1), 9-16.
25. Talja R., Helén H., Roos Y., Jouppila K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67, 288-295.

## **Recyclable barrier papers for food packaging using polysaccharide coatings – comparison of laboratory and industrial test results**

### **Abstract**

The work presents an innovative method of producing paper packaging with a barrier coating with increased resistance to the penetration of water vapor, water and fats. Two types of modified paper were obtained in both laboratory and industrial tests with a target grammage in the range of 44-55 g/m<sup>2</sup>. The analysis of physico-chemical properties, including barrier properties, allowed for a critical comparison of both coating methods: laboratory vs. industrial flexographic printing method. The modified papers obtained in industrial conditions, thanks to their confirmed barrier properties (approx. 5-fold improvement in water vapor barrier and improvement of the KIT oil resistance coefficient from level 1 to 9-10) and the possibility of obtaining final products in the form of heat-sealable pouches, can be used for packaging selected groups of food products. Packaging made of paper with barrier coatings that can be mechanically recycled in hydrothermal pulping processes and reused as a raw material in paper mills can be an ecological

replacement for a certain group of currently used medium-barrier classic packaging made of non-biodegradable plastics.

## Indeks autorów

- Bartkowiak B., 330  
Bernaś E., 6, 186  
Borcza B., 17, 140, 151, 205  
Brodziak A., 26  
Byczyński Ł., 37  
Chaleńska M., 268  
Cielecka-Piontek J., 194  
Czernecki T., 26  
Czerniak Sz., 164  
Dereń K., 140  
Drożdż I., 49  
Duliński R., 37  
Gałkowska D., 304  
Gazda P., 164  
Gąsior K., 304  
Głowa M., 67  
Goik U., 82  
Gościniak A., 194  
Hęś M., 95, 317  
Jankowska A., 317  
Jędrusek-Golińska A., 95, 317  
Jędrzejczak A., 113  
Kaczmarczyk M., 123  
Kapusta-Duch J., 17, 140, 151, 205  
Karbowski A., 37  
Kęska P., 164  
Klepacka J., 255  
Konieczna-Molenda A., 243  
Korus A., 295  
Kotuła M., 151  
Krejpcio Z., 194  
Król J., 26  
Kuchar A., 176  
Kukieła J. B., 186  
Kurek J. M., 194  
Kwaśny D., 17, 151, 205  
Liszka-Skoczylas M., 67  
Małyszek Z., 217  
Mazurek K., 164  
Michalczyk M., 228  
Michalski O., 243  
Mroczkowska A., 140  
Mróz A., 17  
Ostrowska G., 49  
Paszczyk B., 255  
Patla N., 304  
Pietrzyk S., 176  
Polak-Śliwińska M., 255  
Przygoński K., 113, 280  
Pulchny M., 295  
Pulka M., 295  
Roźnowski J., 176  
Ruszkowska M., 268  
Rybarska K., 280  
Sikora E., 17  
Siłka Ł., 164  
Skoczylas Ł., 295  
Sobolewska-Zielińska J., 304  
Stadnik J., 164  
Szymandera-Buszka K., 95, 317  
Tabaszewska M., 186  
Tońska E., 255  
Wajs J., 26  
Weiss W., 151  
Wierzchowski A., 330  
Wiktor J., 205  
Wojtowicz E., 113, 217  
Zajac K., 113  
Zielonka R., 113, 217



ISBN: 978-83-953897-5-7