



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 1 (110)

Kraków 2017

Rok 24

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Lesław Juszcak; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl; tel. 12 662-47-78
Zastępca redaktora naczelnego: dr hab. Mariusz Witczak; e-mail: rrwitcza@cyf-kr.edu.pl
Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): mgr inż. Jadwiga Ślawska; e-mail: redakcja@pttz.org; tel. 12 662-48-30

Redaktorzy tematyczni: prof. dr hab. Grażyna Jaworska (żywność pochodzenia roślinnego), prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (mikrobiologia, bezpieczeństwo i higiena żywności), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (technologia tłuszczów, żywność funkcjonalna), prof. dr hab. Irena Ozimek (zachowania konsumentów na rynku żywności), prof. dr hab. Edward Pospiech (nauka o mięsie), dr hab. Anna S. Tarczyńska (mleczarstwo, zarządzanie jakością)

Redaktor językowy (język polski): dr Anna Piechnik

Native speaker: Stanley Holt (Bolton, UK)

Redaktor statystyczny: dr hab. Mariusz Witczak

Stali współpracownicy: dr Grażyna Morkis (Kraków)

Rada Naukowa: prof. dr hab. Tadeusz Sikora (przewodniczący), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Mariola Friedrich, prof. dr hab. Jan Gawęcki, prof. dr hab. Waldemar Gustaw, prof. dr Jerzy Jankun (USA), prof. dr hab. Agnieszka Kita, prof. dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudysz, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr hab. Mariusz Piskula, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr Antoni Rutkowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada).

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2017
Printed in Poland

e-ISSN 2451-0777 ISSN 2451-0769

Czasopismo w postaci elektronicznej jest wersją główną (pierwotną)

ADRES REDAKCJI: 30-149 KRAKÓW, ul. Balicka 122

Projekt okładki: Jolanta Czarnecka

Zdjęcie na okładce: mikelaptev-Fotolia.com

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapić”, Kraków

Tel. 608 024 572

e-mail: wn@akapit.krakow.pl; www.akapit.krakow.pl

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 1 (110)

Kraków 2017

Rok 24

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
IRENA OZIMEK, NATALIA PRZEŹDZIECKA-CZYŻEWSKA: Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne w regulacjach prawnych i opinii konsumentów	5
JOANNA GŁAZOWSKA, URSZULA STANKIEWICZ, AGNIESZKA BARTOSZEK: Absorpcja, metabolizm i rola biologiczna kwasów nukleinowych obecnych w żywności	18
ANETA BRODZIAK, JOLANTA KRÓL, ANNA NOWACZEK: Naturalne substancje pochodzenia roślinnego negatywnie oddziałujące na zdrowie krów oraz jakość mleka	33
MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI, ELWIRA KOMOŃ-JANCZARA, AGNIESZKA GLIBOWSKA: Selekcja nowo wyizolowanych szczepów <i>Rhizopus oryzae</i> do wydajnej produkcji kwasu L(+) mlekowego.....	48
AGATA FABISZEWSKA, AGNIESZKA PIELIŃSKA, PATRYCJA MAZURCZAK, BARTŁOMIEJ ZIENIUK, MAŁGORZATA WOŁOSZYNOWSKA: Wpływ wybranych czynników na wydajność ekstrakcji i skład kwasów tłuszczowych oleju mikrobiologicznego otrzymywanego z komórek drożdży <i>Yarrowia lipolytica</i>	59
JULIA OLECHNOWICZ, HALINA STANIEK: Ocena zawartości wybranych pierwiastków w różnych rodzajach czekolad	70
TERESA WITCZAK, ANNA STĘPIEŃ, KAROLINA PYCIA, MARIUSZ WITCZAK, AGATA BEDNARZ, MIROSŁAW GRZESIK: Wpływ modyfikacji chemicznej skrobi i stopnia hydrolizy na izotermę sorpcji pary wodnej hydrolizatów	78
MAŁGORZATA PIECYK, ELWIRA WOROBIJ, JUSTYNA TUROS, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA: Właściwości i strawność <i>in vitro</i> skrobi gryczanej w porównaniu ze skrobią pszenną.....	89
ANNA SOBCZYK, RAFAŁ WIŚNIEWSKI, SABINA LACHOWICZ, GRAŻYNA JAWORSKA, TOMASZ PIECHOWIAK: Wpływ serwatki sojowej na właściwości fermentacyjne mąki pszennej i żytniej	101
IZABELLA KWAŚNIEWSKA-KAROLAK: Wpływ zamrażalniczego przechowywania na zawartość witaminy C i wybrane cechy fizykochemiczne owoców papryki słodkiej (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	112
KATARZYNA DYJAK, EWA MICHOTA-KATULSKA, MAGDALENA ZEGAN: Pilotażowe badania pozostałości pestycydów w wybranych świeżych ziołach i warzywach przyprawowych zakupionych w krajowych supermarketach.....	126
JOANNA TRAFIAŁEK, FRIEDRICH-KARL LÜCKE, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, BEATA BILSKA, MARZENA TOMASZEWSKA, WIESŁAWA GRZESIŃSKA: Ocena dostawców w sektorze żywnościowym: czy jest metoda szacowania ryzyka?.....	139
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	155
LESŁAW JUSZCZAK: Nowe książki	160
Z żałobnej karty: Prof. dr hab. Henryk Leszek Kostyra, 1945 - 2016	163
Z żałobnej karty: Prof. dr hab. Anna Leokadia Międzobrodzka 1927 - 2017	167
Technolog Żywności.....	171

Zamieszczone artykuły są recenzowane

Czasopismo jest referowane przez: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef

FOOD. Science. Technology. Quality

The Scientific Organ of Polish Food Technologists' Society (PTTŻ) – quarterly

No 1 (110)

Kraków 2017

Vol. 24

CONTENTS

From the Editor	3
IRENA OZIMEK, NATALIA PRZEŹDZIECKA-CZYŻEWSKA: Nutrition and health claims in legal regulations and opinions of consumers	5
JOANNA GŁAZOWSKA, URSZULA STANKIEWICZ, AGNIESZKA BARTOSZEK: Absorption, metabolism and biological role of nucleic acids present in food	18
ANETA BRODZIAK, JOLANTA KRÓL, ANNA NOWACZEK: Natural substances of plant origin adversely affecting health of cows and milk quality	33
MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI, ELWIRA KOMOŃ-JANCZARA, AGNIESZKA GLIBOWSKA: Selecting newly isolated <i>Rhizopus oryzae</i> strains for efficient production of L(+) lactic acid	48
AGATA FABISZEWSKA, AGNIESZKA PIELIŃSKA, PATRYCJA MAZURCZAK, BARTŁOMIEJ ZIENIUK, MAŁGORZATA WOŁOSZYNOWSKA: Impact of selected factors on extraction yield and composition of fatty acids in microbial oil produced from <i>Yarrowia lipolytica</i> yeast cells	59
JULIA OLECHNOWICZ, HALINA STANIEK: Assessing contents of selected elements in different types of chocolates	70
TERESA WITCZAK, ANNA STĘPIEŃ, KAROLINA PYCIA, MARIUSZ WITCZAK, AGATA BEDNARZ, MIROSŁAW GRZESIK: Effect of chemical modification of starch and degree of hydrolysis on moisture sorption isotherms of hydrolysates	78
MAŁGORZATA PIECYK, ELWIRA WOROBIJ, JUSTYNA TUROS, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA: Properties and <i>in vitro</i> digestibility of buckwheat starch compared to wheat starch	89
ANNA SOBCZYK, RAFAŁ WIŚNIEWSKI, SABINA LACHOWICZ, GRAŻYNA JAWORSKA, TOMASZ PIECHOWIAK: Effect of soy whey on fermentation properties of wheat and rye flours	101
IZABELLA KWAŚNIEWSKA-KAROLAK: Effect of frozen storage on content of vitamin C and some selected features of sweet peppers (<i>Capsicum annuum</i> L.)	112
KATARZYNA DYJAK, EWA MICHOTA-KATULSKA, MAGDALENA ZEGAN: Pilot studies on pesticide residues in selected fresh herbs and seasoning vegetables purchased in internal supermarkets	126
JOANNA TRAFIAŁEK, FRIEDRICH-KARL LÜCKE, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, BEATA BILSKA, MARZENA TOMASZEWSKA, WIESŁAWA GRZESIŃSKA: Assessment of suppliers in food business: is there a way to estimate the risk?	139
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	155
LESŁAW JUSZCZAK: Book reviews	160
Contemporary Terms: Prof. Henryk Leszek Kostyra, 1945 - 2016	163
Contemporary Terms: Prof. Anna Leokadia Międzobrodzka 1927 - 2017	167
The Food Technologist	171

Only reviewed papers are published

Covered by: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

Przekazujemy Państwu nr 1 (110) czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, w którym publikujemy artykuły naukowe o zróżnicowanej tematyce, zawierające wyniki badań z krajowych ośrodków zajmujących się szeroko pojętą nauką o żywności. Zapraszamy również do lektury tzw. działów stałych, gdzie zamieściliśmy m.in. informacje o wybranych konferencjach współorganizowanych przez PTTŻ.

W tym numerze żegnamy i wspominamy śp. prof. dra hab. Henryka Kostyrę – długoletniego redaktora prowadzącego i współtworzącego działy, w których popularyzowane i objaśniane były nowe kierunki w nauce o żywności i żywieniu.

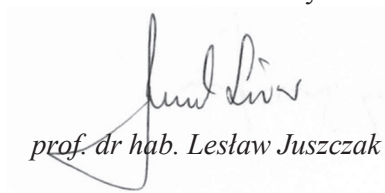
Zapraszamy Państwa do odwiedzania strony internetowej Wydawnictwa pod adresem: <http://wydawnictwo.pttz.org>

Przypominamy również o zmianie adresu e-mail Redakcji i w związku z tym, korespondencję prosimy kierować na adres: redakcja@pttz.org

Równocześnie przypominamy, że w 2017 roku czasopismo będzie się ukazywać jako kwartalnik.

Kraków, marzec 2017 r.

Redaktor Naczelny



prof. dr hab. Lesław Juszczak

IRENA OZIMEK, NATALIA PRZEŹDZIECKA-CZYŻEWSKA

OŚWIADCZENIA ŻYWIENIOWE I ZDROWOTNE W REGULACJACH PRAWNYCH I OPINII KONSUMENTÓW

Streszczenie

W artykule dokonano przeglądu aktów prawnych regulujących umieszczanie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych na opakowaniach produktów żywnościowych w Unii Europejskiej. Ponadto przedstawiono wybrane wyniki badań na temat sposobu postrzegania oświadczeń przez konsumentów. Opakowanie jest pierwszym elementem produktu żywnościowego, z którym konsument ma kontakt i tym samym wydaje się być odpowiednim miejscem do komunikowania się z nim. W roku 2006 uchwalono Rozporządzenie nr 1924/2006 (WE) w sprawie stosowania oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych w krajach Unii Europejskiej, które zawiera zharmonizowane zasady posługiwania się przez podmioty obecne na rynku oświadczeniami w odniesieniu do żywności. Zgodnie z tym aktem prawnym za oświadczenia uznaje się wszelkie komunikaty sugerujące, że produkt żywnościowy charakteryzuje się szczególnymi właściwościami. Producenci chętnie wykorzystują oświadczenia w etykietowaniu, aby podkreślić właściwości danego produktu lub korzyści zdrowotne płynące z jego spożycia. Stosowanie tych informacji przez producentów jest odpowiedzią na oczekiwania konsumentów, którzy w coraz większym stopniu zauważają zależność pomiędzy dietą a zdrowiem. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań dowodzą, że oświadczenia żywieniowe i zdrowotne mogą wpływać na postrzeganie przez konsumentów poszczególnych cech produktu, a także ogólnej oceny jego jakości, brak jednak jednoznacznych danych, że umieszczenie oświadczeń skłoni konsumentów do wyboru produktów korzystniejszych dla zdrowia. Kluczowym zagadnieniem jest również problem interpretacji i rozumienia treści oświadczeń przez konsumentów.

Słowa kluczowe: oświadczenia żywieniowe i zdrowotne, etykietowanie żywności, konsument, regulacje prawne

Wprowadzenie

Środki spożywcze coraz częściej są etykietowane i reklamowane przy wykorzystaniu oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych, które producenci podają na zasadzie

Prof. dr hab. I. Ozimek, Katedra Polityki Europejskiej i Marketingu, Wydz. Nauk Ekonomicznych, mgr inż. N. Przeździecka-Czyżewska, Katedra Organizacji i Ekonomiki Konsumpcji, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa. Kontakt: irena_ozimek@sggw.pl

dobrowolności. Już w roku 2009 w ramach ogólnoeuropejskiego badania oszacowano, że na polskim rynku oświadczeniami żywieniowymi było opatrzone ok. 15 % produktów, a zdrowotnymi – 5 % [33].

Umożliwienie konsumentom identyfikacji produktu żywnościowego oraz dokonywanie wyborów zaspokajających ich indywidualne potrzeby żywieniowe stanowi jedno z najistotniejszych wymagań przepisów prawa żywnościowego. Wzrastająca świadomość konsumentów na temat zależności pomiędzy zdrowiem a żywnością skutkuje ich zainteresowaniem etykietami, w szczególności informacjami żywieniowymi [14].

Celem niniejszej pracy było dokonanie przeglądu stanu prawnego dotyczącego oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych w Unii Europejskiej oraz przedstawienie wybranych wyników badań na temat postrzegania przez konsumentów oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych.

Regulacje prawne dotyczące oświadczeń i warunki ich stosowania

Podstawowym aktem prawnym odnoszącym się do oświadczeń stosowanych w Unii Europejskiej jest Rozporządzenie (WE) Nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności [20]. Rozporządzenie to ma zastosowanie do wszelkich komunikatów przedstawianych w przekazach o charakterze komercyjnym, które mogą być odbierane jako oświadczenia żywieniowe i zdrowotne, zarówno w etykietowaniu, przy prezentacji, jak i reklamie żywności.

Przed uchwaleniem tego aktu prawnego w poszczególnych krajach unijnych starano się we własnym zakresie regulować zagadnienia symboli i treści związanych ze zdrowiem umieszczane na produktach żywnościowych. W niektórych krajach, jak np. w Szwecji, już od lat 90. XX w. wykorzystywano niektóre oświadczenia w ramach dobrowolnych praktyk (*Food Sector's Code of Practice*).

W rozporządzeniu unijnym zdefiniowano „oświadczenie” jako *każdy komunikat lub przedstawienie, które, zgodnie z przepisami wspólnotowymi lub krajowymi, nie są obowiązkowe, łącznie z przedstawieniem obrazowym, graficznym lub symbolicznym w jakiegokolwiek formie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że żywność ma szczególne właściwości*. W dokumencie dokonano rozróżnienia na dwie kategorie oświadczeń: żywieniowe (*nutrition claim*) oraz zdrowotne (*health claim*). W rozporządzeniu oprócz definicji zostały określone szczegółowe ramy stosowania oświadczeń. Zgodnie z nimi przekazy te nie mogą być nieprawdziwe i niejednoznaczne lub wprowadzające w błąd, budzić wątpliwości, co do bezpieczeństwa lub adekwatności odżywczej innej żywności, a także zachęcać do nadmiernego spożycia danej żywności lub stanowić przyzwolenia dla niego. Nie powinny również sugerować, że zrównoważony i zróżnicowany sposób odżywiania się nie może zapewnić odpowiednich ilości składników odżywczych i nie powinny *odnosić się do zmian w funkcjonowaniu orga-*

nizmu w sposób wzbudzający lub wykorzystujący lęk u konsumenta przy pomocy tekstu, bądź przy pomocy obrazów, przedstawień graficznych lub symbolicznych.

Istotnym warunkiem umożliwiającym stosowanie oświadczeń jest spełnienie tzw. profili składników odżywczych, które należy rozumieć jako określoną zawartość np. nasyconych kwasów tłuszczowych, cukru czy soli [12]. Produkt przekraczający te wartości nie będzie mógł być opatrzone oświadczeniem. Ma to na celu zapewnienie maksymalnej ochrony konsumentów przed wzrastającą liczbą produktów żywnościowych opatrzonych oświadczeniami niejednokrotnie wprowadzającymi w błąd co do rzeczywistego składu produktu, poprzez skupienie uwagi jedynie na wybranych składnikach podkreślonych w oświadczeniu [28].

Przedsiębiorcy decydujący się na opatrzenie etykiet oświadczeniami muszą przestrzegać przepisów dotyczących prezentacji i treści określonych w Rozporządzeniu (UE) Nr 1169/2011 w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności [27] i w tym przypadku obowiązkowa informacja o wartości odżywczej musi być zgodna z zasadami określonymi w tym rozporządzeniu począwszy od 13 grudnia 2014 r.

Jednym z podstawowych wymagań dotyczących oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych jest to, aby były one skonstruowane w sposób umożliwiający zapewnienie konsumentom przydatnych i obiektywnych informacji dotyczących korzyści płynących ze spożycia danego produktu żywnościowego. Konsument musi rozumieć nie tylko dane oświadczenie, lecz także być świadomy, jakiej korzyści dotyczy. Dopuszczalne jest jedynie drobne modyfikowanie oświadczeń z uwzględnieniem różnic językowych wynikających z odmienności kulturowej i grupy docelowej. Oświadczenia mogą być przedstawiane także w postaci rysunków, fotografii czy wykresów. Musi być jednak spełniony warunek, że sens zmodyfikowanej treści pozostaje taki sam, jak sens oświadczenia autoryzowanego przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [10].

Definicje i charakterystyka oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych

Zgodnie z Rozporządzeniem (WE) Nr 1924/2006 [20] *oświadczenie żywieniowe oznacza każde oświadczenie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że dana żywność ma szczególne właściwości odżywcze ze względu na:*

- a) energię (wartość kaloryczną), której*
 - (i) dostarcza,*
 - (ii) dostarcza w zmniejszonej lub zwiększonej ilości lub*
 - (iii) nie dostarcza,*
- b) substancje odżywcze lub inne substancje,*
 - (i) które zawiera,*
 - (ii) które zawiera w zmniejszonej lub zwiększonej ilości lub*
 - (iii) których nie zawiera.*

Należy podkreślić, że za oświadczenia żywieniowe nie uznaje się takich informacji, jak wymienienie substancji na liście składników produktu bądź też składników odżywczych w ramach obowiązkowego znakowania produktu. W załączniku do Rozporządzenia (WE) Nr 1924/2006 został ujęty wykaz dopuszczonych oświadczeń żywieniowych wraz z warunkami ich stosowania [20, 21, 22, 23, 37]. Nie stanowi on jednak katalogu w ostatecznej formie, bowiem rozporządzenie dopuszcza także możliwość stosowania komunikatów przedstawionych np. w formie graficznej, sugerującej, że dany produkt dostarcza organizmowi określonych składników. Przykładem oświadczeń żywieniowych mogą być wyrazy lub wyrażenia odnoszące się do zawartości danego składnika w produkcie, np. „bogaty w”, „niska zawartość”, „nie zawiera”, „bez dodatku”, „źródło” oraz ogólne stwierdzenia charakteryzujące produkt, jak np. „naturalny/naturalnie”, czy „lekki”. Oświadczenia żywieniowe podkreślają sam fakt zawartości składników odżywczych bez wyjaśnienia ich funkcji w organizmie. W odróżnieniu od oświadczeń zdrowotnych, oświadczenia żywieniowe nie zawierają również odniesienia do efektów zdrowotnych wynikających ze spożycia tych składników lub żywności. Dla konsumentów stanowią jedynie komunikat eksponujący konkretne atrybuty produktu, które w innych okolicznościach mogłyby pozostać niezbrane. Należy pamiętać, że za oświadczenia żywieniowe uznaje się każdorazowe powtórzenie informacji o zawartości składnika ponad obowiązkowe wymienienie go w spisie składników (także w formie obrazkowej i graficznej) [10]. Tym samym za oświadczenie zostanie uznana zarówno treść wskazująca, że dany produkt jest np. „bogaty w wapń”, jak i samo opatrzenie, np. frontu opakowania, napisem „wapń” czy skrótem „Ca” bądź też grafiką sugerującą konsumentowi, że produkt dostarcza organizmowi ten składnik. Wśród oświadczeń żywieniowych wyróżnia się również oświadczenia porównawcze, których zasady stosowania określono w artykule 9. Rozporządzenia (WE) Nr 1924/2006.

Z kolei termin *oświadczenie zdrowotne* oznacza każde oświadczenie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że istnieje związek pomiędzy kategorią żywności, daną żywnością lub jednym z jej składników a zdrowiem [20]. W odróżnieniu od oświadczeń żywieniowych, oświadczenia zdrowotne podkreślają fizjologiczne funkcje danego składnika i wskazują na korzyści płynące z jego spożycia. Dokonano rozróżnienia na trzy rodzaje oświadczeń zdrowotnych. Pierwsza grupa to tzw. oświadczenia funkcjonalne [36]. Zostały one określone w artykule 13. rozporządzenia jako komunikaty opisujące rolę składnika odżywczego lub innej substancji we wzroście, rozwoju i funkcjonowaniu organizmu oraz funkcje psychologiczne lub behawioralne. Do tej grupy oświadczeń zaliczane są również komunikaty odnoszące się do odchudzania, kontroli masy ciała, zmniejszania odczucia głodu albo zwiększania odczucia sytości lub zmniejszania ilości energii dostępnej z danego sposobu odżywiania się.

Przykładowo, podanie informacji „zawiera przeciwutleniacze” należy uznać za oświadczenie funkcjonalne.

Kolejny rodzaj oświadczeń zdrowotnych to wyróżnione w artykule 14. rozporządzenia oświadczenia odnoszące się do rozwoju i zdrowia dzieci [20], np. „wapń i witamina D są potrzebne do prawidłowego wzrostu i rozwoju kości u dzieci” [26]. Istotne jest, że za oświadczenie dotyczące rozwoju i zdrowia dzieci uznaje się komunikaty, których uzasadnienie naukowe, w postaci wyników przeprowadzonych badań, dotyczy tej konkretnej grupy docelowej.

Ostatnią grupę oświadczeń zdrowotnych stanowią oświadczenia o zmniejszaniu ryzyka choroby. Ten rodzaj komunikatów zawiera przekaz, że spożycie danego składnika znacząco zmniejsza jakiś czynnik ryzyka w rozwoju choroby. Jest to wyjątkowy rodzaj oświadczeń, ponieważ dopuszcza odwołanie się do chorób i związanych z nimi dolegliwościami w odniesieniu do żywności, np. „wykazano, że beta-glukan występujący w owsie obniża/redukuje poziom cholesterolu we krwi. Wysoki poziom cholesterolu jest czynnikiem ryzyka rozwoju choroby wieńcowej serca” [24]. Zakazane jest jednak stosowanie oświadczeń wskazujących na właściwości lecznicze żywności [20]. Takie stwierdzenia uznaje się za oświadczenia medyczne [10]. Odnoszą się one do produktu leczniczego i są objęte przepisami ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne [35]. Z uwagi na to, że oświadczenia o zmniejszeniu ryzyka choroby są najtrudniejsze do udowodnienia, nie jest łatwo uzyskać dla nich akceptację stosownych instytucji.

EFSA na bieżąco publikuje listę oświadczeń zdrowotnych, które uzyskały autoryzację wraz ze szczegółowymi wytycznymi określającymi warunki ich stosowania. Spośród 257 przyjętych oświadczeń zdrowotnych aż 232 to oświadczenia funkcjonalne. Jedynie 15 odnosi się do zmniejszania ryzyka choroby, a 12 - do wzrostu i zdrowia dzieci. Utworzenie takiego publicznego rejestru zapewnia przejrzystość i pozwala uniknąć wielokrotnego składania wniosków dotyczących oświadczeń już poddanych ocenie. Warto podkreślić, że prace nad ustanowieniem ostatecznej wersji katalogu dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych nadal trwają. Pierwszym aktem prawnym ustanawiającym wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci, było opublikowane w roku 2012 Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 432/2012 [25]. Obejmowało ono 222 oświadczenia.

Procedury oceny i zatwierdzania oświadczeń

Za prowadzenie i aktualizację wspólnotowego wykazu oświadczeń dotyczących żywności odpowiedzialna jest Komisja Europejska. Jedną z wiodących zasad rozporządzenia w sprawie oświadczeń jest możliwość stosowania oświadczenia zdrowotnego wyłącznie wówczas, gdy jest ono potwierdzone na podstawie ogólnie przyjętych

danych naukowych. Zatwierdzanie oświadczeń zdrowotnych związane jest ze współpracą dwóch instytucji koniecznych w procesie ich akceptacji – Komisji Europejskiej i EFSA. Za weryfikację, czy przedłożone oświadczenia mają dostateczne potwierdzenie naukowe, odpowiada EFSA. Zapewnia to zharmonizowaną klasyfikację. Dopiero na podstawie oceny naukowej prowadzonej przez EFSA i inne uzasadnione czynniki Komisja Europejska podejmuje ostateczną decyzję o wydaniu lub odmowie wydania zezwolenia w odniesieniu do oświadczenia. Może się zdarzyć, że postanowienie Komisji będzie odmienne od stanowiska EFSA, bowiem opinia urzędu nie ma charakteru wiążącego i stanowi jedynie narzędzie pomocnicze w podejmowaniu decyzji. Merytoryczna opinia EFSA uwzględnia zakres kompetencji przygotowany przez Komisję Europejską [4]. Zawiera on tzw. punkty odniesienia (*terms of reference*) [10]. Bazując na nich analiza oświadczeń powinna obejmować między innymi odpowiedzi na pytania: czy żywność lub jej składnik będący przedmiotem oświadczenia został dostatecznie scharakteryzowany i przebadany, czy zadeklarowany w oświadczeniu korzystny wpływ na zdrowie został dostatecznie zdefiniowany i czy stanowi on korzystny efekt fizjologiczny oraz czy istnieje związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy spożyciem danego składnika bądź żywności i zadeklarowanym korzystnym efektem, a także czy zostały przedstawione odpowiednie wyniki badań z udziałem właściwej grupy docelowej [4, 10].

Jeżeli EFSA uzna istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy żywnością lub jej składnikiem a korzystnym efektem zdrowotnym, w dalszej kolejności analizuje sposób sformułowania oświadczenia. Rozważania dotyczą tego, czy treść odzwierciedla dostatecznie dowody naukowe oraz czy jest zgodna z warunkami określonymi w Rozporządzeniu 1924/2006. Nie ma ustalonych wytycznych dotyczących liczby oraz rodzajów dowodów w postaci badań naukowych koniecznych do przedłożenia. Każdy zgłoszony składnik podlega indywidualnej ocenie EFSA. W Polsce organem właściwym w sprawach wspólnotowego wykazu oświadczeń dotyczących żywności jest Główny Inspektor Sanitarny.

Po opublikowaniu opinii naukowej przez EFSA Komisja Europejska rozpatruje sposób wyrażenia oświadczenia oraz zrozumienia jego treści przez konsumentów [10]. Treść oświadczenia powinna być taka, że przeciętny konsument właściwie zrozumie opisane w oświadczeniu korzystne działanie. Za przeciętnego konsumenta uznaje się osobę, która jest odpowiednio poinformowana oraz spostrzegawcza i ostrożna. Należy też uwzględnić czynniki społeczne, kulturowe i językowe [23]. Nadal brakuje jednak odniesienia do sposobu, w jaki to zrozumienie powinno być weryfikowane. W związku z tym założenia przyjęte w różnorodnych interpretacjach, co do rozumienia treści oświadczeń przez konsumentów, są subiektywne.

Oddziaływanie oświadczeń na konsumentów

Stopień, w jakim oświadczenia żywieniowe i zdrowotne oddziałują na konsumentów, jest przedmiotem zainteresowania wielu badaczy [3, 5, 6, 7, 14, 15, 18]. Z dotychczas przeprowadzonych badań wynika, że są one różnie postrzegane, aczkolwiek przekaz zawarty w oświadczeniach jest łatwo dostępnym źródłem informacji o produkcie i może ułatwić podjęcie decyzji o jego zakupie [1].

Wybór produktów żywnościowych wymaga z reguły niewielkiego zaangażowania ze strony konsumentów i zwykle wynika z ich wcześniejszych doświadczeń. Pomimo że konsumenci deklarują zainteresowanie oznakowaniem produktów żywnościowych oraz częste wykorzystanie informacji zawartych na etykietach, to zazwyczaj poszukują informacji głównie w sytuacji nabywania nowego produktu lub wyboru alternatywnej marki [11, 17, 34]. Jak wynika z badań przeprowadzonych wśród polskich konsumentów, uznają oni za zasadne zamieszczanie na opakowaniu informacji edukacyjnej dotyczącej roli danego składnika w żywieniu i zachowania zdrowia oraz obecności na etykietach informacji wskazujących na związek danej żywności z zapobieganiem lub leczeniem chorób [8].

Z badań wynika, że umieszczanie oświadczeń w głównym polu widzenia w formie informacji edukacyjnej wskazującej na rolę danego składnika w żywieniu i zdrowiu jest zdaniem konsumentów wręcz konieczne [9]. Często podkreślana przez konsumentów niewystarczająca czytelność etykiet i niezrozumiałość informacji na nich zawartych [11, 18] może stanowić barierę we właściwym zinterpretowaniu oraz wykorzystaniu informacji zawartych w przekazie. Istnieje obawa, że dodanie oświadczenia może skutkować „efektem halo” polegającym na postrzeganiu produktu jako bardziej wartościowego źródła składników odżywczych, których to oświadczenie nie dotyczy lub powstania niekorzystnego zjawiska tzw. magicznej kuli (*magic bullet-effect*) przejawiającego się przypisywaniem produktowi wpływu na zdrowie nieadekwatnego do składu [19]. W konsekwencji może prowadzić to konsumentów do przekonania, że spożywanie żywności oznaczonej oświadczeniami jest korzystniejsze dla zdrowia, niż ma to faktycznie miejsce w rzeczywistości.

Ponadto wyniki badań wskazują, że dodanie oświadczenia zdrowotnego lub żywieniowego wpływa pozytywnie na postrzeganie przez konsumentów produktu, ale wpływ ten jest niewielki lub wręcz znikomy [2, 13, 16, 30]. Zaobserwowano także, że obecność oświadczenia nie zawsze znajduje odzwierciedlenie w intencji zakupu [16]. Zarówno pozytywna ocena walorów zdrowotnych, jak i cech sensorycznych takiej żywności, nie muszą skutkować chęcią jego nabycia przez konsumentów.

Niewątpliwie obserwuje się zależność pomiędzy oceną oświadczeń przez konsumentów a sposobem, w jaki są one sformułowane. Znaczenie ma również to, do jakiego składnika odżywczego się odnosi oraz do jakiej kategorii należy oświadczenie umieszczone na produkcie [15, 30]. Ponadto postrzeganie przez konsumentów wiarygodności

oświadczeń zależne jest od korzyści zdrowotnych, do których treść się odnosi [30]. Na znaczeniu zyskują oświadczenia zawierające szczegółowe informacje na temat funkcji danego składnika lub żywności oraz jego efektów zdrowotnych, zwłaszcza w odniesieniu do czynników, które dotyczą bezpośrednio konsumentów lub ich bliskich [3].

Konsumenty lepiej oceniają oświadczenia zdrowotne od żywieniowych [31]. Chociaż oświadczenia zdrowotne oceniane są jako bardziej przekonujące i sprawiają, że produkt żywnościowy wydaje się bardziej atrakcyjny, to jednak wiarygodność obu typów oświadczeń – zarówno żywnościowego, jak i zdrowotnego – jest porównywalna i w podobnym stopniu wpływa na chęć zakupu produktu. Ponadto stwierdzono, że oświadczenia sugerujące, że określony składnik lub dana żywność mogą pomagać w leczeniu, nie zwiększają oczekiwanych korzyści dotyczących odbioru danej żywności [29]. Przypuszcza się, że konsumenci mogą mieć problem z rozróżnieniem oświadczenia żywieniowego od zdrowotnego, pomimo że regulacje prawne wyraźnie tę klasyfikację określają [14].

Z badań przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych wynika, że konsumenci preferują krótkie oświadczenia na froncie etykiety, znajdujące się w głównym polu widzenia [32]. Przy krótkich oświadczeniach badani wymieniali więcej pozytywnych cech produktu. Na tej podstawie można wnioskować, że krótkie oświadczenia na froncie etykiety będą bardziej przydatne w komunikowaniu atrybutów produktu i bezpośrednich korzyści płynących z jego spożycia. Postrzeganie przez konsumentów oświadczeń jako skrótu najważniejszych informacji (*short-cut cue*) żywieniowych o produkcie może mieć jednak dwojaki efekt [7]. Może skłonić do poszukiwania bardziej szczegółowych informacji i zapoznania się z danymi umieszczonymi na pozostałych elementach opakowania. Z drugiej strony, jak wykazują wyniki innych badań z udziałem m.in. polskich konsumentów, oświadczenia sformułowane w postaci krótkich treści i umieszczone na froncie opakowania mogą wprowadzać w błąd bądź osłabiać zainteresowanie produktem poprzez sugerowanie, że jest on skierowany do osób o szczególnych potrzebach żywieniowych. Tym samym mogą zniechęcać do zakupu konsumentów spoza danej grupy docelowej. Przykładowo produkty, na których znajduje się informacja „niska zawartość tłuszczu”, mogą zostać odebrane jako odpowiednie tylko dla osób będących na diecie odchudzającej [7].

Skandynawscy badacze postanowili sprawdzić, czy oświadczenia zdrowotne wpływają na postrzeganie przez konsumentów pozostałych cech produktu, takich jak: zdrowotność, naturalność i smakowość [13]. W tym celu posłużono się różnymi opakowaniami tego samego produktu, z których jedno było opatrzone oświadczeniami, a drugie nie. Jak wynika z tego eksperymentu, oświadczenia mają raczej umiarkowany wpływ na postrzeganie pozostałych cech produktu. Jednak sposób oddziaływania jest głównie negatywny. Oznacza to, że produkty opatrzone oświadczeniami były zazwyczaj oceniane przez konsumentów jako mniej smaczne, zdrowe czy naturalne. Autorzy

zauważyli również, że negatywnego postrzegania należy spodziewać się szczególnie w sytuacji, gdy treść odnosi się do składnika nieznanego wcześniej konsumentom. Spośród wszystkich cech produktu najsilniejszą zależność zaobserwowano pomiędzy obecnością oświadczenia a oceną w kontekście naturalności. Można zatem wnioskować, że dodany składnik funkcjonalny postrzegany jest jako coś nienaturalnego. Zauważono również, że konsumenci nastawieni pozytywnie do żywności funkcjonalnej są bardziej sceptyczni w ocenie wiarygodności oświadczeń zdrowotnych niż osoby o negatywnej lub obojętnej postawie wobec produktów funkcjonalnych [6]. Nieufność odnosi się przede wszystkim do potencjalnego uzasadnienia merytorycznego. Konsumentom ci częściej formułowali wnioski, że treść oświadczenia nie jest zgodna z dokumentacją naukową lub wyniki, na podstawie których sformułowano dane oświadczenie, nie są wystarczające [4].

Treść oświadczenia i sposób jego sformułowania ma zasadniczo mniejszy wpływ na postrzeganie produktu niż składnik, do którego ten komunikat się odnosi. Obserwuje się różny stopień zainteresowania konsumentów oświadczeniami w zależności od składnika, którego dotyczą. Nie bez znaczenia jest również, czy treść oświadczenia odnosi się do zawartości konkretnego składnika w produkcie, czy do całego produktu jako takiego. Komunikaty dotyczące samego produktu, bez wymienienia konkretnego składnika odżywczego, postrzegane są jako mniej wiarygodne [30]. Zaobserwowano także, że konsumenci wykazują aprobatę dla korzyści wynikających z oświadczenia pod warunkiem, że odnosi się ono do znanych im składników [13, 15]. Więcej pozytywnych skojarzeń wywołuje informacja o zawartości składnika, którego pozytywny wpływ na zdrowie konsument doświadczył już w przeszłości [5, 13]. Przykładowo z negatywną oceną konsumentów spotkał się przekaz dotyczący bioaktywnych peptydów – składników nieznanego pochodzenia dla większości badanych. W tym samym badaniu produkt opatrzony oświadczeniem odnoszącym się do kwasów tłuszczowych omega-3 był pozytywniej oceniany niż produkt bez oświadczenia. W przypadku informacji o bioaktywnych peptydach nie zaobserwowano takiej zależności, co niewątpliwie ma związek z ograniczoną znajomością tych składników aktywnych. Przypuszcza się, że w sytuacji, gdy oświadczenie dotyczy znanego składnika, konsumenci mogą dostrzegać korzyści zdrowotne, nawet gdy nie są one opisane [13].

W ocenie oświadczeń znaczenie ma również kategoria produktu, na którego opakowaniu takie oświadczenie zostało umieszczone. Przykładowo oświadczenie żywieniowe o zawartości kwasów omega-3 w mięsie wieprzowym powodowało negatywny odbiór tego produktu przez konsumentów. Tymczasem umieszczenie tej samej treści na jogurtach wywoływało pozytywne reakcje badanych [13]. Siła oddziaływania oświadczeń w zależności od kategorii produktu jest różna. W przypadku jogurtu znacznie istotniejszy niż oświadczenie żywieniowe okazał się jego skład [15]. Ponadto oświadczenia są bardziej pozytywnie odbierane w sytuacji, kiedy konsumenci potrafią

zidentyfikować pozostałe substancje odżywcze zawarte w produkcie i mają świadomość ich wpływu na organizm [34].

Podsumowanie

Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne mogą wpływać na postrzeganie przez konsumentów poszczególnych cech produktu, a także na ogólną ocenę jego jakości. Brakuje jednak jednoznacznych danych dowodzących, że umieszczenie oświadczeń skłoni konsumentów do wyboru produktów bardziej korzystnych dla zdrowia. Na pewno konieczne są dalsze prace legislacyjne nad regulacjami dotyczącymi oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych, szczególnie ustalenie ostatecznego ich wykazu. Kluczowym zagadnieniem jest również problem interpretacji i zrozumienia treści oświadczeń przez konsumentów, co wymaga dalszych badań. Usystematyzowanie oświadczeń jest istotne również w kontekście obowiązującego Rozporządzenia (UE) Nr 1169/2011 odnoszącego się zarówno do sposobu informowania konsumentów o właściwościach produktu, jak i do wyglądu opakowania oraz szczegółów przekazu znajdującego się na nim.

Literatura

- [1] Ciok J., Szponar L., Jarosz M.: Naukowe uzasadnienie oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, XXXIV (6), 1619-1632.
- [2] Chrysochou P., Grunert K.G.: Health-related ad information and health motivation effects on product evaluations. *J. Bus. Res.*, 2014, 67 (6), 1209-1217.
- [3] Dean M., Lampila P., Shepherd R., Arvola A., Saba A., Vassallo M., Claupein E., Winkelmann M., Lähteenmäki L.: Perceived relevance and foods with health-related claims. *Food Qual. Pref.*, 2012, 24 (1), 129-135.
- [4] European Commission request to the European Food Safety Authority for scientific advice on: The community list of permitted health claims pursuant article 13 of Regulation 1924/2006 on nutrition and health claims made on foods [on line]. Dostęp w Internecie [20.01.2017]: <http://www.efsa.europa.eu/en/ndaclaims13/docs/ndaart13tor.pdf>
- [5] Grunert K.G., Lähteenmäki L., Boztug Y., Martinsdóttir E., Ueland O., Åström A., Lampila P.: Perception of health claims among Nordic consumers. *J. Cons. Policy*, 2009, 32, 269-287.
- [6] Grunert K.G., Scholderer J., Rogeaux M.: Determinants of consumer understanding of health claims. *Appetite*, 2011, 56, 269-277.
- [7] Hodgkins Ch., Barnett J., Wasowicz-Kirylo G., Stysko-Kunkowska M., Gulcan Y., Kustepeli Y., Akgungor S., Chryssochoidis G., Fernández-Celemin L., Bonsmann S., Gibbs M., Raats M.: Understanding how consumers categorise nutritional labels: A consumer derived typology for front-of-pack nutrition labelling. *Appetite*, 2012, 59, 806-817.
- [8] Jarosz A., Kozłowska-Wojciechowska M., Uramowska-Zyto B.: Oczekiwania konsumentów wobec informacji żywieniowej umieszczanej na opakowaniach produktów spożywczych. *Roczniki PZH*, 2003, 54 (2), 231-239.
- [9] Kleef E., Trijp H.C.M., Luning P.: Functional foods: Health claim-food product compatibility and the impact of health claim framing on consumer evaluation. *Appetite*, 2005, 44, 299-308.

- [10] Kondrat M., Stefańczyk-Kaczmarczyk J., Gęsiak K.: Prawo suplementów diety. Wyd. Wolters Kluwer, Warszawa 2012.
- [11] Krasnowska G., Salejda A.M.: Ocena wiedzy konsumentów na temat znakowania żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 1 (74), 173-189.
- [12] Krasnowska G., Sikora T., Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne dotyczące żywności. *Mag. Przem. Mięs.*, 2007, 7, 8-10.
- [13] Lähteenmäki L., Lampila P., Grunert K., Boztug Y., Ueland Ø., Åström A., Martinsdóttir E.: Impact of health-related claims on the perception of other product attributes. *Food Policy*, 2010, 35, 230-239.
- [14] Lähteenmäki L.: Claiming health in food products. *Food Qual. Pref.*, 2013, 27, 196-201.
- [15] Miklavec K., Pravst I., Grunert K.G., Klopčič M., Pohar J.: The influence of health claims and nutritional composition on consumers' yoghurt preferences. *Food Qual. Pref.*, 2015, 43, 26-33.
- [16] Orquin J.L., Scholderer J.: Consumer judgments of explicit and implied health claims on foods: Misguided but not misled. *Food Policy*, 2015, 51, 144-157.
- [17] Ozimek I., Tomaszewska-Pielacha M.: Czynniki wpływające na czytanie przez konsumentów informacji zamieszczanych na opakowaniach produktów żywnościowych. *Studia i materiały Polskiego Stowarzyszenia Zarządzania Wiedzą*, 2011, 52, 26-35.
- [18] Ozimek I., Tomaszewska-Pielacha M.: Czytelność, zrozumiałość i kompletność informacji zamieszczanych na opakowaniach żywności w opinii konsumentów. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, 92 (4), 820-823.
- [19] Roe B., Levy A.S., Derby B.M.: The impact of health claims on consumer search and product evaluation outcomes: Results from FDA experimental data. *J. Public Policy Mark.*, 1999, 18 (1), 89-105.
- [20] Rozporządzenie (WE) Nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności. *Dz. Urz. UE L 12 z późn. zm.*
- [21] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 107/2008 z dnia 15 stycznia 2008 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 w sprawie oświadczeń żywieniowych i oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności w odniesieniu do uprawnień wykonawczych przyznanych Komisji. *Dz. Urz. UE L 39, ss. 8-10, z 13.02.2008 r.*
- [22] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 109/2008 z dnia 15 stycznia 2008 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności. *Dz. Urz. UE L 39, ss. 14-15, z 13.02.2008 r.*
- [23] Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 116/2010 z dnia 9 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do wykazu oświadczeń żywieniowych. *Dz. Urz. UE L 37, ss. 16-18, z 10.02.2010 r.*
- [24] Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 1160/2011 z dnia 14 listopada 2011 r. w sprawie udzielenia i odmowy udzielenia zezwolenia na niektóre oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby. *Dz. Urz. UE L 296, s. 26-28, z 4.10.2012 r.*
- [25] Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 432/2012 z dnia 16 maja 2012 r. ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci. *Dz. Urz. UE L 136 z późn. zm.*
- [26] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 983/2009 z dnia 21 października 2009 r. w sprawie udzielania i odmowy udzielenia zezwoleń na oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz do rozwoju i zdrowia dzieci. *Dz. Urz. L 277, ss. 3-12, z 22.10.2009 r.*
- [27] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) NR 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1924/2006 i (WE) Nr 1925/2006 oraz uchylenia

- dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) Nr 608/2004. Dz. Urz. UE L 304, s. 18-63, z 22.11.2011 r. z późn. zm.
- [28] Tańska I.: Oświadczenia zdrowotne i żywieniowe – możliwości i ograniczenia stosowania na podstawie nowych przepisów prawnych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2006, 50 (09), 13-14.
- [29] Urala N., Arvola A., Lähteenmäki L.: Strength of health-related claims and their perceived advantage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2003, 38 (7), 815-826.
- [30] Van Trijp H.C.M., van der Lans I.: Consumer perceptions of nutrition and health claims. *Appetite*, 2007, 48, 305-324.
- [31] Verbeke W., Scholderer J., Lähteenmäki L.: Consumer appeal of nutrition and health claims in three existing product concepts. *Appetite*, 2009, 52, 684-692.
- [32] Wansink B., Sonka S.T., Hasler C.M.: Front-label health claims: When less is more. *Food Policy*, 2004, 29, 659-667.
- [33] Wills J.M.: Nutrition labelling and the European Consumer. In: 19th International Congress of Nutrition (ICN2009), Bangkok, Thailand, 4-9 October 2009. [on line]. Dostęp w Internecie [4.12.2016]: <http://www.icn2009.com/Presentations/Oct%209/S56/Microsoft%20PowerPoint%20%200830-1000%20S56-3%20Josephine%20Wills%20%5BCompatibility%20Mode%5D.pdf>.
- [34] Williams P.G.: Consumer understanding and use of health claims for foods. *Nutrition Reviews*, 2005, 63 (7), 256-264.
- [35] Wrześniewska-Wal I.: Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne. *Przem. Spoż.*, 2010, 4 (55), 48-50.
- [36] Wskazówki dotyczące wdrażania Rozporządzenia Nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 roku w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności, Wnioski Stałego Komitetu ds. Łańcucha Żywnościowego i Zwierząt, 14.12.2007 r. [on line]. Dostęp w Internecie [20.01.2017]: <http://gis.gov.pl/zywnosc/oswiadczenia-zywnieniowe-i-zdrowotne/wytyczne-dot-oswiadczen-zywnieniowych-i-zdrowotnych>.
- [37] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1047/2012 z dnia 8 listopada 2012 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 w odniesieniu do wykazu oświadczeń żywieniowych. Dz. Urz. L 310, ss. 36-37, z 9.11.2012 r.

NUTRITION AND HEALTH CLAIMS IN LEGAL REGULATIONS AND OPINIONS OF CONSUMERS

S u m m a r y

The paper is a review of legal regulations regulating the inserting of nutrition and health claims on the packaging of food products in the European Union. Moreover, some selected research results are presented on how the consumers perceive those claims. The packaging is the first element of food product to contact the consumer and, therefore, it seems to be a proper means to communicate with them. In December 2006, Regulation (EC) No. 1924/2006 was adopted on the use of nutrition and health claims in the EU countries; it contains harmonised provisions on the use of claims made on food by entities present on the market. According to this legal act, 'claim' is any communication, which suggests that a food product has particular characteristics. Manufacturers willingly utilize claims to label foods in order to highlight properties of a given food product or its health benefits when consuming it. The application of such information is a response to the expectations of consumers who are more and more aware of the relationship between diet and health. The results of the hitherto studies confirm that the nutrition and health claims may impact the consumer perception of individual attributes of a product and their overall evaluation of its quality. How-

ever, there are no clear data indicating that a claim placed on the label can convince consumers to choose products that are more beneficial to health. The key issue is also how consumers understand and interpret the contents of nutrition and health claims.

Key words: nutrition and health claims, food labelling, consumer, legal regulations 

JOANNA GLAZOWSKA, URSZULA STANKIEWICZ,
AGNIESZKA BARTOSZEK

ABSORPCJA, METABOLIZM I ROLA BIOLOGICZNA KWASÓW NUKLEINOWYCH OBECNYCH W ŻYWNOSCI

Streszczenie

Kwasy nukleinowe należą do niedocenianych składników żywności, szczególnie surowej lub nisko przetworzonej. W niniejszej publikacji skupiono się na omówieniu przemian, jakim podlegają kwasy nukleinowe w przewodzie pokarmowym człowieka, procesie absorpcji nukleotydów oraz nukleozydów z przewodu pokarmowego, a także przedstawiono podstawowe etapy ich metabolizmu w komórkach organizmu. Produkty trawienia kwasów nukleinowych stanowią źródło ważnych cząsteczek sygnalizacyjnych i prekursorowych, mogą być również ponownie wykorzystane do budowy nowych cząsteczek kwasów nukleinowych w organizmie człowieka. W ostatnich latach największe zainteresowanie wzbudzają niskocząsteczkowe kwasy nukleinowe, takie jak niekodujące RNA (ncRNA), także obecne w żywności. Sugeruje się możliwość oddziaływania pokarmowego ncRNA na poziomie regulacji ekspresji genów w komórkach przewodu pokarmowego, a być może i innych tkankach konsumenta. Zarówno wartość odżywcza, jak i wpływ spożywanych kwasów nukleinowych na funkcjonowanie genomu i transkryptomu wskazują na konieczność rozpatrywania żywienia człowieka w kontekście nutrigenomiki.

Słowa kluczowe: kwasy nukleinowe, żywność, właściwości odżywcze, nutrigenomika

Wprowadzenie

Kwasy nukleinowe, tzn. DNA i różne klasy RNA, obecne są w każdej żywej komórce zwierzęcej i roślinnej jako podstawowy nośnik informacji genetycznej, powielanej i przekazywanej komórkom potomnym. Stanowią one również źródło informacji epigenetycznej regulującej funkcjonowanie genomu poprzez wpływ m.in. na strukturę chromatyny. Przede wszystkim jednak DNA jest podstawowym źródłem informacji

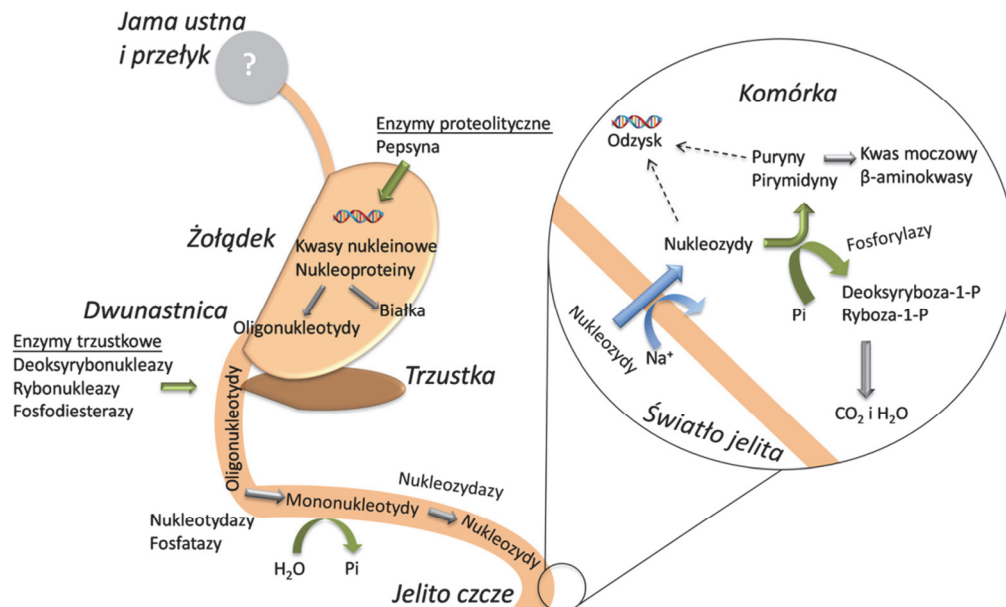
o budowie białek i niekodujących RNA (ncRNA), zapewniających prawidłowe funkcjonowanie komórek, a w konsekwencji całego organizmu.

W naukach o żywieniu kwasy nukleinowe uznawane były dotychczas za mało istotny składnik, a ich wartość odżywczą pomijano zapewne ze względu na szacunki sugerujące, że tylko ok. 5 % spożywanych kwasów nukleinowych wykorzystywanych jest ponownie przez organizm do syntezy kwasów nukleinowych. DNA i RNA w większości trawione są w układzie pokarmowym i wchłaniane przede wszystkim w postaci nukleozydów. Nukleozydy purynowe przekształcane są do kwasu moczowego z wydzielaniem znaczącej ilości energii. W ostatnich latach dowiedziono jednak nie tylko budulcowych i energetycznych właściwości kwasów nukleinowych, ale także ich cech regulatorowych. Dotyczy to w szczególności niekodujących cząsteczek RNA, głównie tzw. microRNA (miRNA), które po spożyciu mogą mieć bezpośredni wpływ na ekspresję genów człowieka, a w konsekwencji na funkcjonowanie jego organizmu [15, 16, 19]. Kwasy nukleinowe stały się przedmiotem zainteresowania, a przemiany, jakim ulegają podczas przemysłowej produkcji żywności, obróbki kulinarnej oraz trawienia w przewodzie pokarmowym, są wskazywane jako istotne w technologii przetwarzania żywności, jak i na płaszczyźnie nutrigenomiki [6].

Absorpcja i metabolizm kwasów nukleinowych

Przewód pokarmowy jest główną drogą, którą „obce” dla organizmu substancje dostają się do jego wnętrza. Komórki nabłonka wyściełające wnętrze przewodu pokarmowego stanowią zatem potencjalne miejsce kontaktu z kwasami nukleinowymi obecnymi w żywności. Podczas trawienia większość obecnych w pokarmie łańcuchów kwasów nukleinowych ulega całkowitej degradacji do jednostek budulcowych. Kilka procent podlega jednak tylko fragmentacji na odcinki o długości od kilkuset do ok. 1700 par zasad. Wykazano, że nawet tak duże fragmenty mogą migrować do komórek nabłonka jelita, węzła Peyera, limfocytów, komórek wątroby oraz śledziony. Wykorzystanie techniki reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), Southern blottingu czy hybrydyzacji fluorescencyjnej *in situ* umożliwiło identyfikację tych fragmentów pokarmowego DNA we wspomnianych tkankach [12].

Do przewodu pokarmowego cząsteczki DNA i przynajmniej niektóre rodzaje RNA docierają w postaci nukleoprotein. Podczas trawienia kwasy nukleinowe uwalniane są z nich przez enzymy proteolityczne. Najnowsze badania wskazują także na możliwość wstępnego trawienia kwasów nukleinowych przez enzymy obecne w soku żołądkowym, m.in. przez pepsynę [10]. Reakcja ta jest dużo mniej specyficzna niż trawienie białek, może jednak zwiększać stopień trawienia kwasów nukleinowych w jelicie cienkim oraz stanowić pierwszą linię obrony przed inwazyjnym obcym DNA



Objaśnienia / Explanatory notes:

β-aminokwasy / β-amino acids; białka / proteins; deoksyrybonukleazy / deoxyribonucleases; deoksyryboza-1-P / deoxyribose-1-P; dwunastnica / duodenum; enzymy proteolityczne / proteolytic enzymes; enzymy trzustkowe / pancreatic enzymes; fosfatazy / phosphatases; fosfodiesterazy / phosphodiesterases; fosforylaza / phosphorylase; jama ustna i przełyk / mouth and esophagus; jelito czcze / jejunum; komórka / cell; kwas moczowy / uric acid; kwasy nukleinowe / nucleic acids; mononukleotydy / mononucleotides; nukleoproteiny / nucleoproteins; nukleotydazy / nucleotidases; nukleozydazy / nucleosidases; nukleozydy / nucleosides; odzysk / salvage; oligonukleotydy / oligonucleotides; pepsyna / pepsine; pirymidyny / pyrimidines; puryny / purines; rybonukleazy / ribonucleases; ryboza-1-P / ribose-1-P; światło jelita / intestinal lumen; trzustka / pancreas; żołądek / stomach

Rys. 1. Proces trawienia oraz absorpcji kwasów nukleinowych w układzie pokarmowym

Fig. 1. Digestion process and absorption of nucleic acids in digestive tract

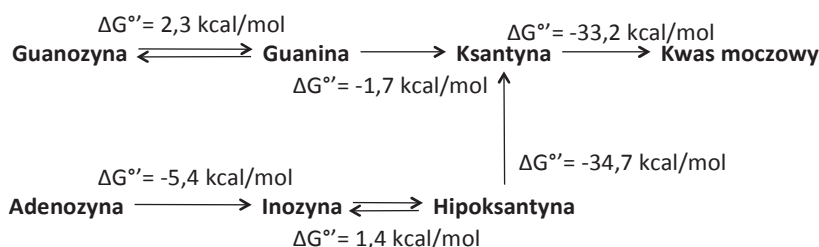
Źródło: Opracowanie własne / Source: the authors' own study

lub RNA. W dwunastnicy kwasy nukleinowe degradowane są przez nukleazy trzustkowe do mono-, di-, tri- i oligonukleotydów. W jelicie cienkim, w obecności oligonukleazydaz, kwasy nukleinowe trawione są do pojedynczych nukleotydów. Fosfoesterazy hydrolizują następnie wiązania fosfodiesterowe, odłączając grupę ortofosforanową i uwalniając poszczególne nukleozydy. Dalszy ich rozpad prowadzi do otrzymania zasad purynowych lub pirymidynowych. Uproszczony schemat trawienia kwasów nukleinowych w przewodzie pokarmowym przedstawiono na rys. 1.

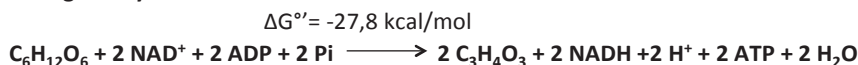
Głównym produktem trawienia kwasów nukleinowych są nukleozydy wchłaniane z przewodu pokarmowego przez enterocyty, zarówno na drodze dyfuzji wspomaganą, jak i poprzez transport aktywny. Największe wchłanianie zachodzi w jelicie czczym.

Zaabsorbowane nukleozydy purynowe są szybko metabolizowane i przekształcane do kwasu moczowego, natomiast nukleotydy pirymidynowe – do β -aminokwasów.

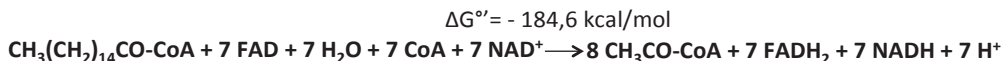
Na rys. 2. przedstawiono schemat degradacji nukleotydów purynowych do kwasu moczowego wraz z wartościami energii swobodnej Gibbsa poszczególnych reakcji. Szacuje się, że w przypadku puryn końcowe etapy katabolizmu obejmujące przejścia od adenozyiny do kwasu moczowego pozwalają uzyskać 71,9 kcal/mol energii. Dla porównania szlak glikolityczny od glukozy do kwasu pirogronowego dostarcza 27,8 kcal/mol, a szlak β -oksydacji kwasów tłuszczowych do acetylo-CoA, np. dla kwasu palmitynowego dostarcza 184,6 kcal/mol.



Szlak glikolizy:



Szlak degradacji kwasów tłuszczowych:



Objaśnienia / Explanatory notes:

adenozyina / adenosine; guanina / guanine; guanozyina / guanosine; hipoksantyna / hypoxanthine; inozyina / inosine; ksantyna / xanthine; kwas moczowy / uric acid; szlak degradacji kwasów tłuszczowych / fatty acid degradation pathway; szlak glikolizy / glycolytic pathway

Rys. 2. Schemat przemian nukleotydów purynowych do kwasu moczowego wraz z energią swobodną Gibbsa dla poszczególnych reakcji oraz wartości $\Delta G^{\circ'}$ dla szlaku glikolitycznego oraz szlaku β -oksydacji kwasów tłuszczowych na przykładzie kwasu palmitynowego

Fig. 2. Conversion scheme of purine nucleosides into uric acid with Gibbs free energy for individual reactions and $\Delta G^{\circ'}$ values for glycolytic pathway and fatty acid β -oxidation pathway exemplified by palmitic acid

Opracowano na podstawie [14, 20] / Developed based on [14, 20]

W badaniach na zwierzętach wykazano, że tylko 2 ÷ 5 % spożywanych nukleotydów wchłanianych jest z przewodu pokarmowego i wbudowywanych w struktury komórkowe. Ma to miejsce szczególnie w młodym wieku osobniczym podczas intensywnego

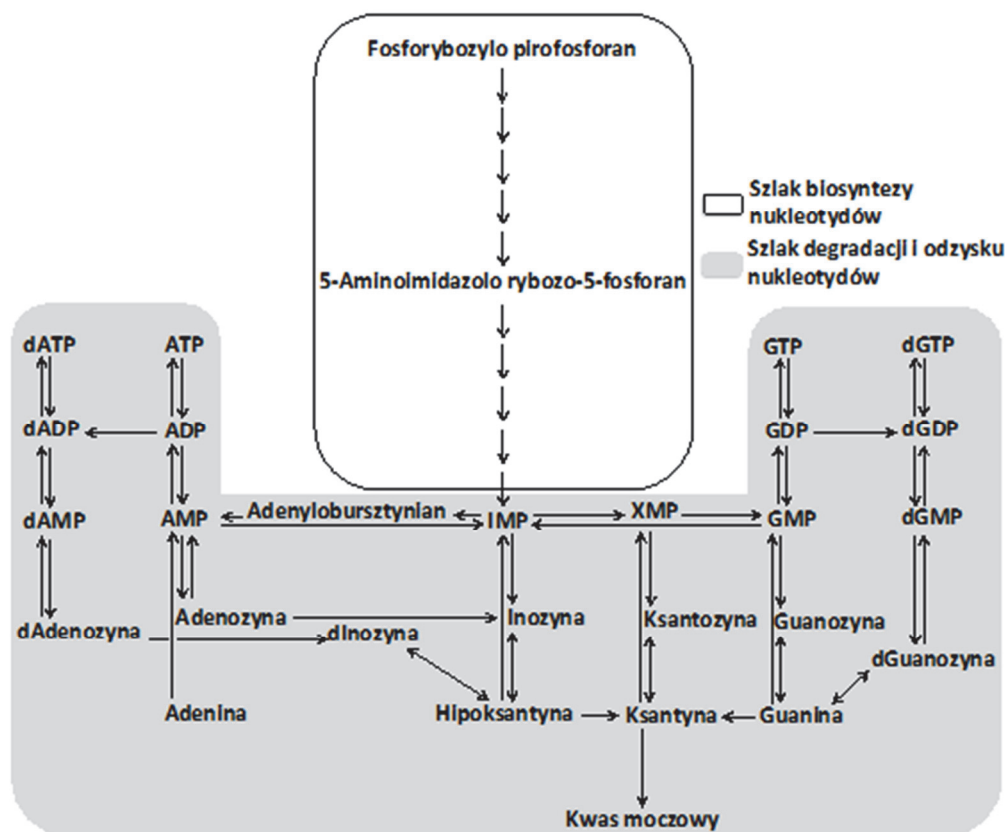
nego wzrostu organizmu, a także w okresach ograniczonej dostępności pożywienia lub pokarmu ubogiego w składniki odżywcze [2, 3]. Pod tym względem nie bez znaczenia są również kwasy nukleinowe i ich pochodne uwalniane ze złuszczonego się nabłonka wyściełającego wnętrze jelita. Stanowią one część nukleotydów wchłanianych i wykorzystywanych ponownie przez organizm w procesie odzysku oraz tworzenia nowych kwasów nukleinowych. W przypadku szczurów może to być nawet do 30 mg kwasów nukleinowych na dobę [3].

Metabolizm puryn

Pierścień purynowy syntezowany jest w komórkach ssaków z glicyny, asparagianu, glutaminy, pochodnych tetrahydrofolianu i CO_2 . Do biosyntezy inozynomonofosforanu (IMP), produktu wyjściowego do syntezy adeniny i guaniny, konieczne jest zużycie 6 cząsteczek ATP. Szlak metaboliczny puryn przedstawiono schematycznie na rys. 3.

Odzysk nukleotydów możliwy jest dzięki obecności enzymów: fosforybozylotransferazy guaniny-hipoksantyny, która katalizuje reakcję konwersji guaniny w obecności 5-fosforybozyl-1-pirofosforanu do guanozyny-5'-monofosforanu (GMP) oraz hipoksantyny w obecności 5-fosforybozyl-1-pirofosforanu do IMP, a także adenino fosforybozylotransferazy katalizującej konwersję adeniny w obecności 5-fosforybozyl-1-pirofosforanu do adenozy-5'-monofosforanu (AMP). Uruchomienie szlaku odzysku nukleotydów (powstawanie GMP i AMP) blokuje syntezę nukleotydów *de novo*. Ze względu na to, że synteza nukleotydów jest procesem kosztownym energetycznie, w komórce regulowana jest na bardzo wielu poziomach [3].

Puryny i ich pochodne przekształcane są do kwasu moczowego i w tej postaci usuwane z moczem z organizmu. W procesie tym udział biorą m.in. nukleazy specyficzne dla RNA i DNA, nukleotydazy i alkaliczne oraz kwasowe fosfatazy hydrolizujące wiązania 3'- i 5'-NT, deaminazy AMP i deaminazy adenozy, a także fosforylaza purynowych nukleozydów hydrolizująca nukleozydy do zasad. Końcowym etapem przemian nukleotydów purynowych jest tworzenie kwasu moczowego przez oksydazę ksantynową.



Objaśnienia / Explanatory notes:

ATP – adenozyno-5'-trifosforan / adenosine 5'-triphosphate; dATP – deoksyadenozyno-5'-trifosforan / deoxyadenosine 5'-triphosphate; ADP – adenozyno-5'-difosforan / adenosine-5'-diphosphate; dADP – deoksyadenozyno-5'-difosforan / deoxyadenosine-5'-diphosphate; AMP – adenozyno-5'-monofosforan / adenosine-5'-monophosphate; dAMP – deoksyadenozyno-5'-monofosforan / deoxyadenosine-5'-monophosphate; IMP – inozyno-5'-monofosforan / inosine-5'-monophosphate; XMP – ksantozyno-5'-monofosforan / xanthosine-5'-monophosphate; GTP – guanozyno-5'-trifosforan / guanosine-5'-triphosphate; dGTP – deoksyguanozyno-5'-trifosforan / deoxyguanosine-5'-triphosphate; GDP – guanozyno-5'-difosforan / guanosine-5'-diphosphate; dGDP – deoksyguanozyno-5'-difosforan / deoxyguanosine 5'-diphosphate; GMP – guanozyno-5'-monofosforan / guanosine-5'-monophosphate; dGMP – deoksyguanozyno-5'-monofosforan / deoxyguanosine-5'-monophosphate.

Rys. 3. Schemat przedstawiający szlak metaboliczny puryn

Fig. 3. Scheme of purine metabolic pathway

Opracowano na podstawie [3, 20] / Developed based on [3, 20]

Metabolizm pirymidyn

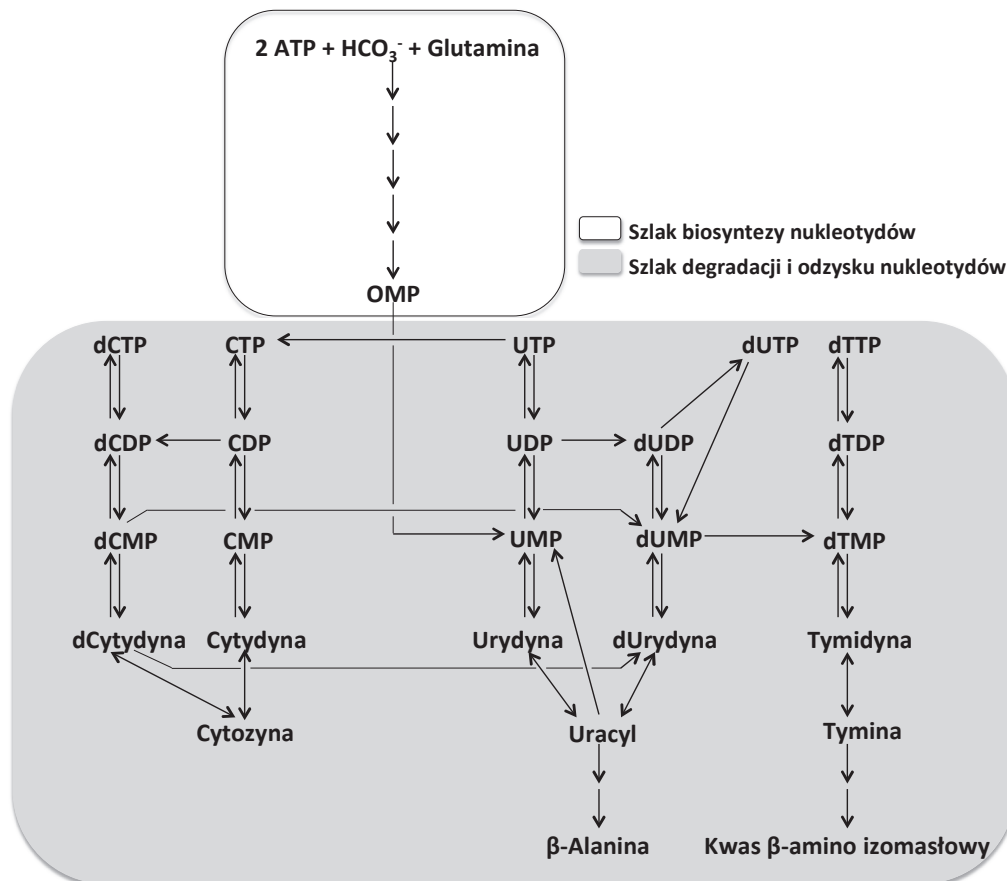
Cząsteczka pirymidyny syntezowana jest w komórkach z jednej cząsteczki asparaginianu, glutaminy i cząsteczki CO₂. Oprócz tego do zsyntezowania cząsteczki monofosforanu urydyny (UMP) potrzebne są 4 wysokoenergetyczne reszty fosforanowe. Szlak biosyntezy pirymidyn przedstawiono na rys. 4. Odzysk pirymidyn zachodzi w komórce na drodze konwersji pirymidyny w obecności 5-fosforybozylo-1-pirofosforanu do monofosforanu pirymidyny katalizowanej przez fosforybozylo-transferazę pirymidyny [3].

W procesie degradacji pierwszym etapem jest konwersja nukleotydów pirymidynowych do nukleozydów, a następnie do uracylu lub tyminy. Cytydyna ulega deaminacji do urydyny, która z kolei ulega deglikozylacji do uracylu. Uracyl i tymina ulegają dalszym rozkładom odpowiednio do β-alaniny i kwasu β-aminoizomasłowego.

Kwasy nukleinowe jako składniki odżywcze w żywności

Kwasy nukleinowe obok białek, tłuszczów, witamin i węglowodanów stanowią naturalny składnik produktów żywnościowych. Produkty ich trawienia w układzie pokarmowym są wchłaniane i przynajmniej częściowo wykorzystywane do syntezy kwasów nukleinowych w organizmie człowieka. Jest to ważna oszczędność energetyczna, bowiem biosynteza 1 cząsteczki zasady azotowej np. guanozyno-5'-monofosforanu wymaga nakładu 7 cząsteczek ATP czyli ok. 49 kcal/mol. Nie ma danych w przypadku organizmu ludzkiego by degradacja kwasów nukleinowych służyła pozyskiwaniu energii, choć taką możliwość wykazano przynajmniej dla niektórych mikroorganizmów [5]. Wiadomo jednak, że ograniczona ilość lub całkowity brak tych składników w codziennej diecie może prowadzić do zaburzeń i nieprawidłowości w normalnym wzroście i rozwoju organizmu. Wykazano, że brak RNA w spożywanych produktach może powodować znaczące zmniejszenie zawartości RNA w komórkach jelita cienkiego [1]. Dieta uboga w kwasy nukleinowe lub ich pozbawiona powoduje nie tylko znaczne zmniejszenie zawartości całkowitego RNA, ale także białek w komórkach jelita cienkiego oraz grubego. Wskazuje to na występowanie mechanizmów kontrolujących syntezę specyficznych białek w zależności od ilości spożywanych kwasów nukleinowych [3].

Nukleotydy obecne w żywności działają stymulująco na wzrost i dojrzewanie komórek jelita. W warunkach *in vitro* wykazano też, że deficyt nukleotydów w diecie obniża zdolność organizmu do reakcji immunologicznej przeciwko patogenom grzybiczym oraz bakteryjnym. Główne zdrowotne efekty spożywania diety bogatej w kwasy nukleinowe przedstawiono w tab. 1.



Objaśnienia / Explanatory notes:

OMP – orotydyno-5'-monofosforan / orotidine-5'-monophosphate; CTP – cytydyno-5'-trifosforan / cytidine 5'-triphosphate; dCTP – deoksycytydyno-5'-trifosforan / deoxycytidine 5'-triphosphate; CDP – cytydyno-5'-difosforan / cytidine 5'-diphosphate; dCDP – deoksycytydyno-5'-difosforan / deoxycytidine 5'-diphosphate; CMP – cytydyno-5'-monofosforan / cytidine 5'-monophosphate; dCMP – deoksycytydyno-5'-monofosforan / deoxycytidine 5'-monophosphate; UTP – urydyno-5'-trifosforan / uridine-5'-triphosphate; dUTP – deoksyuryduno-5'-trifosforan / deoxyuridine-5'-triphosphate; UDP – urydyno-5'-difosforan / uridine-5'-diphosphate; dUDP – deoksyuryduno-5'-difosforan / deoxyuridine-5'-diphosphate; UMP – urydyno-5'-monofosforan / uridine-5'-monophosphate; dUMP – deoksyuryduno-5'-monofosforan / deoxyuridine-5'-monophosphate; dTTP – deoksytymidyno-5'-trifosforan / deoxythymidin-5'-triphosphate; dTDP – deoksytymidyno-5'-difosforan / deoxythymidin-5'-diphosphate; dTMP – deoksytymidyno-5'-monofosforan / deoxythymidin-5'-monophosphate.

Rys. 4. Schemat przedstawiający szlak metaboliczny pirymidyn

Fig. 4. Scheme of pyrimidine metabolic pathway

Opracowano na podstawie [3, 20] / Developed based on [3, 20]

Spożywanie kwasów nukleinowych, nukleotydów oraz nukleozydów powoduje w organizmie zwiększenie produkcji kwasu moczowego oraz jego pochodnych w surowicy. Zbyt wysoki poziom tych metabolitów, szczególnie w przypadku nieprawidłowego odczynu krwi, może prowadzić do powstawania kryształów kwasu moczowego, a w konsekwencji do rozwoju tzw. dny [7].

Tabela 1. Zdrowotne efekty spożywania żywności wzbogaconej nukleotydami w organizmach ludzi i zwierząt

Table 1. Health effects of consuming food enriched with nucleotides in human and animal bodies

Efekt zdrowotny Health effect	Ludzie Humans	Zwierzęta Animals
Stymulacja wzrostu komórek jelita cienkiego Stimulation of small intestinal cells growth	b.d. n.d.	+
Zwiększenie aktywności disacharydaz jelita cienkiego Increased activity of disaccharidases in small intestine	b.d. n.d.	+/-
Przekrwienie jelit Intestinal hyperaemia	b.d. n.d.	+
Ochrona przeciwko bieguncie Protection against diarrhea	+	+
Wpływ na florę kałową Effect on fecal flora	+	b.d. n.d.
Wzmocniona odporność komórkowa Enhanced cellular immunity	+	+/-
Wzmocniona odporność humoralna Enhanced humoral immunity	b.d. n.d.	+
Wpływ na strukturę wątroby Effect on liver structure	b.d. n.d.	+
Wzrost zawartości długłańcuchowych nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi Increased content of long chain unsaturated fatty acids in blood	+/-	+/-
Wpływ na lipoproteiny w surowicy krwi Effect on serum lipoproteins	+/-	b.d. n.d.

Objaśnienia / Explanatory notes:

b.d. – brak danych / n.d. – no data; + – potwierdzone działanie prozdrowotne / confirmed health-promoting effect; +/- – możliwe działanie prozdrowotne / possible health-promoting effect

Źródło: [3] / Source: [3]

Szacuje się, że w zależności od stosowanej diety dzienna dawka spożywanych kwasów nukleinowych waha się w granicach $0,1 \div 1$ g/osobę [7]. Jednocześnie sugeruje się, że bezpieczna ilość kwasów nukleinowych spożywanych przez dorosłego człowieka to 2 g/dzień [3], przy czym zaleca się spożycie maksymalnie do 4 g/dzień DNA oraz RNA [1]. Ze względu na różnorodność produktów oraz stopień ich przetwo-

rzenia, a przede wszystkim brak wiarygodnych danych, trudno jest jednoznacznie określić ilość kwasów nukleinowych obecnych w żywności oraz tych spożywanych.

Potencjalna żywieniowa rola niekodujących cząsteczek RNA

Obecnie uwaga badaczy skierowana jest na rolę, jaką mogą odgrywać różnego rodzaju cząsteczki RNA, a w szczególności miRNA, w funkcjonowaniu organizmów żywych, przede wszystkim człowieka. Większość prowadzonych badań dotyczy powiązania między ekspresją pewnych ncRNA a zagrożeniem zdrowotnym. Potwierdzenie takiej zależności zwróciło jednak uwagę także na obecność tych cząsteczek w żywności. Wstępne dane uzyskane w badaniach *in vitro* i *in vivo* wskazują, że miRNA mogą wnikać z pokarmu do organizmu człowieka i pełnić w nim funkcje regulatorowe [19]. Wyniki te, obok entuzjazmu związanego z nowymi możliwościami terapii typu „leczenie poprzez jedzenie”, wzbudzają również wiele kontrowersji i sceptycyzmu [15, 17], a formułowane hipotezy wymagają jeszcze wielu badań i weryfikacji.

Obok mRNA kodujących białka występuje wiele form ncRNA pełniących przede wszystkim funkcje regulatorowe. Na podstawie badań nad właściwościami fizykochemicznymi tych kwasów nukleinowych stwierdzono, że w porównaniu z większymi cząsteczkami RNA, niskocząsteczkowe RNA są odporne na ogrzewanie, na niskie/wysokie pH (stabilność podczas traktowania przez 3 h przez środowisko o pH = 1 i pH = 13), długi okres przechowywania, cykliczne rozmrażanie i zamrażanie (10 cykli) [4]. A zatem potencjalnie miRNA mogłyby przetrwać zarówno przetwarzanie żywności, jak i warunki w układzie pokarmowym.

Pod względem żywieniowym najbardziej interesujące mogą być właśnie miRNA. Są to jednoniciowe biomolekuły kodowane w genomach większości organizmów, regulujące ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym. Produkt powstały na skutek transkrypcji (pri-miRNA) jest długą (kilkaset nukleotydów), jednoniciową cząsteczką RNA, przyjmującą strukturę tzw. spinki do włosów. Dojrzewanie miRNA przebiega dwuetapowo. W pierwszym etapie uczestniczy enzym o aktywności rybonukleazy III – Drosha, który katalizuje wycięcie fragmentu o długości 70 nukleotydów, odpowiadającego za pofałdowanie struktury. Następnie pri-miRNA transportowany jest przez białko Exportin 5 z jądra do cytoplazmy, gdzie dochodzi do drugiego etapu dojrzewania. Bierze w nim udział rybonukleaza Dicer, która przecina obie nici w odległości 21 nukleotydów od miejsca jej związania z pri-miRNA. Duplekсы są szybko rozdzielane na dwie niezależne nici, z których jedna jest degradowana, natomiast druga – włączana w kompleks RISC (RNA – *induced silencing complex*; pol. – kompleks wyciszający indukowany RNA), na który składają się m.in. białka Argonaut. Uważa się, że kompleks ten może regulować ekspresję genów u większości organizmów eukariotycznych, w tym ssaków i ludzi. Nić miRNA obecna w kompleksie RISC łączy się na zasadzie komplementarności z mRNA w jego części określonej jako UTR (*untranslated region*;

pol. – region niepodlegający translacji). W zależności od stopnia komplementarności z obszarem 3'-UTR mRNA dochodzi do inhibicji translacji bez zniszczenia transkryptu (częściowa komplementarność) lub degradacji mRNA (komplementarność całkowita). Zgodnie z obecnym stanem wiedzy w ludzkim organizmie cząsteczki miRNA (szacuje się, że jest ich ok. 1000) regulują ekspresję 30 % genów. Odgrywają one przez to dużą rolę w procesach fizjologicznych i patologicznych, mają też znaczenie dla procesu embriogenezy. Zaburzenia w ekspresji miRNA są wiązane także z powstawaniem nowotworów i rozwojem innych chorób. Zatem obecność tych cząsteczek w żywności wzbudza zrozumiałe zainteresowanie, które wzrosło, o ile potwierdzona zostanie ich zdolność do wnikania z pokarmu do organizmu człowieka.

Jednym z najlepiej przebadanych pokarmowych źródeł kwasów nukleinowych jest mleko kobiece, które stanowi jedyny i do tej pory niezastąpiony w pełni pokarm dla nowonarodzonych niemowląt. Wiadomo, że obok dostarczania substancji odżywczych dla młodego organizmu, pełni ono ważną rolę regulatorową, dostarczając czynników kształtujących metabolizm, układ odpornościowy i inne funkcje w organizmie noworodka. Ważnymi składnikami mleka kobiecego są nukleozydy, nukleotydy oraz kwasy nukleinowe. We wczesnych etapach laktacji zawartość kwasów nukleinowych w mleku kobiecym waha się od 20 do 70 $\mu\text{g/ml}$ i wraz z postępem laktacji zmniejsza się do poziomu $27 \div 30 \mu\text{g/ml}$ mleka. Przeważającą formą są niskocząsteczkowe kwasy nukleinowe o średniej długości do 100 par zasad, o charakterze RNA, wykazujące obecność II- i III-rzędowych form przestrzennych przypominających kształt spinki do włosów oraz inne formy dwuniciowe. Sekwencje wyizolowanych z mleka oligonukleotydów odpowiadają fragmentom rRNA oraz tRNA występujących w komórkach organizmu ludzkiego [9, 13].

W przeciwieństwie do badań opisanych wyżej, Kosaka i wsp. [8] stwierdzili w mleku kobiecym bardzo małą zawartość rRNA, a wyizolowane polinukleotydy charakteryzowały się długością ok. 300 par zasad. Wykazali oni także obecność miRNA o zawartości $0,0097 \div 0,2282 \mu\text{g/ml}$. Analiza jakościowa potwierdziła obecność 281 spośród 723 znanych wówczas cząsteczek miRNA, głównie takich, których funkcje związane są z układem immunologicznym (tab. 2). Wykazano trwałość miRNA w obecności rybonukleaz. Cząsteczki te nie są też degradowane do nukleotydów, a ich stabilność w pH równym 1 przez ok. 1 h wskazuje na możliwość przetrwania w warunkach panujących w żołądku noworodka. Oznacza to, że dzięki tej odporności cząsteczki miRNA mogą dotrzeć do jelita i tam, po ewentualnym wchłonięciu, modulować ekspresję genów [8].

Tabela 2. Przykładowe miRNA występujące w mleku kobiecym i ich funkcja

Table 2. Examples of miRNAs present in human milk and their function

Skrócona nazwa cząsteczki Abbreviated name of molecule	Funkcja / Function
miR-155	Reguluje dojrzewanie limfocytów B i T oraz stymuluje wrodzoną odpowiedź immunologiczną. Regulates maturation of B and T lymphocytes and stimulates innate immune response.
miR-181a i miR-181b	Regulują różnicowanie limfocytów B oraz selekcję limfocytów typu Th. Regulate differentiation of B cells and selection of Th lymphocytes.
miR-17 i miR-92	Regulują w szerokim zakresie rozwój limfocytów typu B, T oraz monocytów. Broadly regulate development of B, T lymphocytes, and monocytes.
miR-125b	Negatywny regulator produkcji, aktywacji oraz czułości czynnika α związanego z nekrozą nowotworów. Negative regulator of production, activation, and sensitivity of α factor related to tumour necrosis.
miR-146b	Negatywny regulator wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Negative regulator of innate immune response.
miR-223	Regulator proliferacji oraz aktywacji neutrofilów. Regulator of neutrophils proliferation and activation.
let-7i	Regulator receptora TLR4 w ludzkich cholangiocytych. TLR4 receptor regulator in human cholangiocytes.

Opracowano na podstawie [8] / Developed based on [8]

Począwszy od roku 2013 ukazują się publikacje z wynikami badań dotyczących wchłaniania przez organizmy kręgowców miRNA pochodzącego z pokarmu, a także wynikających z tego konsekwencji. Wskazują one, że miRNA mogą być wchłaniane przez osoby dorosłe z przewodu pokarmowego do komórek nabłonka jelita cienkiego, tam umieszczane w micelach chroniących je przed degradacją, a następnie transportowane naczyniami krwionośnymi po całym organizmie. Uważa się także, że mikroflora układu pokarmowego może w znaczący sposób ułatwiać wchłanianie cząsteczek RNA. Wprawdzie poznanie tych mechanizmów ma na celu znalezienie w przyszłości sposobów wykorzystania miRNA, np. w terapii przeciwnowotworowej poprzez doustne podanie pacjentowi odpowiednio dobranego zestawu supresorowych miRNA, jednak ich poznanie będzie miało ogromne znaczenie także dla nauk o żywieniu [11, 15, 19].

Z kolei sceptycy nie są przekonani, że miRNA wchłaniają się z przewodu pokarmowego ludzi niecierpiących na choroby układu pokarmowego i stosujących odpowiednio zbilansowaną dietę. Uważają, że możliwość wchłaniania dostarczanego z pożywieniem RNA występuje wyłącznie u osób z zaburzeniami funkcjonowania oraz organizacji komórek nabłonka wyściełającego jelito cienkie, co generalnie wiąże się ze

zwiększoną przenikalnością substancji chemicznych z przewodu pokarmowego do komórek nabłonka oraz układu krwionośnego [17, 18]. Niewątpliwie badania najbliższych lat rozstrzygną kwestię udziału regulatorowych cząsteczek ncRNA z pokarmu w regulacji genów człowieka, co być może otworzy nowy rozdział badań nad żywnością i żywieniem.

Podsumowanie

Kwasy nukleinowe są obecne w spożywanej przez ludzi surowej i nisko przetworzonej żywności, szczególnie w warzywach, rybach, owocach morza oraz mięsie. Zawartość kwasów nukleinowych w żywności może wynosić nawet do 10 % s.m. Ich obecność ma wpływ na sensoryczne właściwości spożywanej żywności, głównie poprzez obecność nukleotydu guanozyno-5'-monofosforanu (GMP), który uznawany jest za wzmacniacz smaku umami. Kwasy nukleinowe stanowią również ważne składniki żywności, istotne do poprawnego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Mają wpływ na poprawne funkcjonowanie układu pokarmowego oraz odpornościowego człowieka, a także są źródłem energii oraz wielu cząsteczek sygnalizacyjnych w organizmie. W ostatnich latach odkryto, że krótkie fragmenty kwasów nukleinowych (miRNA) wchłanianych z żywności mogą mieć wpływ na regulację ekspresji genów, m.in. komórek układu pokarmowego. Ma to szczególne znaczenie dla prawidłowego rozwoju układu pokarmowego noworodków, u których kwasy nukleinowe obecne w mleku matki stymulują m.in. prawidłowe dojrzewanie funkcji trawiennych. Dodatkowo, ze względu na dużą różnorodność biochemiczną oraz metaboliczną ludzi, ważnym aspektem w tworzeniu nowoczesnych zaleceń żywieniowych staje się dążenie do personalizacji diety, co pozwoli w szerszym aspekcie wykorzystać prozdrowotnie obecne w niej składniki, w tym kwasy nukleinowe. Z tego powodu tak ważne staje się poznanie dokładnych mechanizmów oraz roli, jaką odgrywają kwasy nukleinowe w żywności i żywieniu człowieka. Obecny stan wiedzy na temat roli i zawartości tych makromolekuł jest niewystarczający, co przedstawiono w przytoczonych danych literaturowych. Istotne staje się poznanie szczegółowych zawartości kwasów nukleinowych obecnych w spożywanych surowcach i produktach żywnościowych w celu zaktualizowania obecnie obowiązujących dla nich norm żywieniowych, a także mechanizmu ich wchłaniania z przewodu pokarmowego do komórek nabłonka oraz przenikania do krwioobiegu.

Podziękowania

Autorki składają podziękowania Panu prof. dr hab. inż. Zdzisławowi E. Sikorskiemu (Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska) za cenne uwagi edytorskie. Publikacja przygotowana została w ramach projektu: VEGFRUT nr 605/L-4/2012 pt. „Wykorzystanie technologii mikro-

falowych w przetwórstwie warzyw i owoców w celu uzyskania produktów żywnościowych o wysokiej jakości zdrowotnej” finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, program LIDER.

Literatura

- [1] Adjei A.A., Shigeru Y., Kulkarni A.: Nucleic acids and/or their components: A possible role in immune function. *J. Nutr. Sci. Vitaminol*, 1995, 1 (41), 1-16.
- [2] Carver J.D.: Dietary nucleotides: Effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Paediatr. Suppl.*, 1999, 88 (430), 83-88.
- [3] Carver J.D., Walker A.W.: The role of nucleotides in human nutrition. *J. Nutr. Biochem*, 1995, 2 (6), 58-72.
- [4] Chen X., Ba Y., Ma L., Cai X., Yin Y., Wang K., Guo J., Zhang Y., Chen J., Guo X., Li Q., Li X., Wang W., Zhang Y., Wang J., Jiang X., Xiang Y., Xu C., Zheng P., Zhang J., Li R., Zhang H., Shang X., Gong T., Ning G., Wang J., Zen K., Zhang J., Zhang C.-Y.: Characterization of micro RNAs in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.*, 2008, 18, 997-1006.
- [5] Finkel S.E., Kolter R.: DNA as a nutrient: Novel role for bacterial competence gene homologs. *J. Bacteriol.*, 2001, 21 (183), 6288-6293.
- [6] Gętek M., Czech M., Fizia K., Białek-Dratwa A., Muc-Wierzoń M., Kokot T., Nowakowska-Zajdel E.: Nutrigenomika – bioaktywne składniki żywności. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013, 67, 255-260.
- [7] Jonas D.A., Elmadfa I., Engel K.H., Heller K.J., Kozianowski G., König A., Müller D., Narbonne J.F., Wackernagel W., Kleiner J.: Safety considerations of DNA in food. *Ann. Nutr. Metab.*, 2001, 6 (45), 235-254.
- [8] Kosaka N., Izumi H., Sekine K., Ochiya T.: MicroRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. *Silence*, 2010, 1 (7), 1-8.
- [9] Kuligina E.V., Semenov D.V., Shevyrina O.N., Richter V.A.: Ribonucleic acids of human milk. *Nucleos. Nucleot. Nucl.*, 2004, 6-7 (23), 837-842.
- [10] Liu Y., Zhang Y., Dong P., An R., Xue C., Ge Y., Wei L., Liang X.: Digestion of nucleic acids starts in the stomach. *Scientific Reports*, 2015, 5, # 11936, 1-11.
- [11] Mlotshwa S., Pruss G.J., MacArthur J.L., Endres M.W., Davis C., Hofseth L.J., Peña M.M., Vance V.: A novel chemopreventive strategy based on therapeutic microRNAs produced in plants. *Cell Res*, 2015, 4 (25), 521-524.
- [12] Palka-Santini M., Schwarz-Herzke B., Hösel M., Renz D., Auerochs S., Brondke H., Doerfler W.: The gastrointestinal tract as the portal of entry for foreign macromolecules: Fate of DNA and proteins. *Mol. Gen. Genomics*, 2003, 3 (270), 201-215.
- [13] Semenov D.V., Kuligina E.V., Shevyrina O.N., Richter V.A., Vlassov V.V.: Extracellular ribonucleic acids of human milk. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2004, 1022, 190-194.
- [14] Van Kreeel B. K.: The estimation of the apparent standardised free energy change ΔG°_{pH} of a biochemical reaction from the standard free energy of formation and apparent free energy of ionization of the participating molecules and its application to the reaction of purine metabolism. *Biochem. Educ.*, 1985, 3 (13), 125-130.
- [15] Witwer K.W., Hirschi K.D.: Transfer and functional consequences of dietary microRNAs in vertebrates: Concepts in search of corroboration. *Bioessays*, 2014, 36, 394-406.
- [16] Yu A.-M., Pan Y.-Z.: Noncoding microRNAs: Small RNAs play a big role in regulation of ADME? *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2012, 2 (2), 93-101.

- [17] Yang J., Hirschi K.D., Farmer L.M.: Dietary RNAs: New stories regarding oral delivery. *Nutrients*, 2015, 5 (7), 3184-3199.
- [18] Yang J., Farmer L.M., Agyekum A.A.A., Hirschi K.D.: Detection of dietary plant-based small RNAs in animals. *Cell Res.*, 2015, 25, 517-520.
- [19] Zhang L., Hou D., Chen X., Li D., Zhu L., Zhang Y., Li J., Bian Z., Liang X., Cai X., Yin Y., Wang C., Zhang T., Zhu D., Zhang D., Xu J., Chen O., Ba Y., Liu J., Wang Q., Chen J., Wang J., Wang M., Zhang Q., Zhang J., Zen K., Zhang C.-Y.: Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: Evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.*, 2012, 22, 107-126.
- [20] Zubay G.F.: *Biochemistry*. Ed. IV. William C. Brown Publishers, Dubuque, USA, 1998.

ABSORPTION, METABOLISM AND BIOLOGICAL ROLE OF NUCLEIC ACIDS PRESENT IN FOOD

S u m m a r y

Nucleic acids are one of the underestimated ingredients in food, especially in the raw or low-processed food products. The paper focuses on discussing conversions in nucleic acids that occur in the human digestive tract, on absorption processes of nucleosides and nucleotides from the gastrointestinal tract; also, the basic steps of their metabolism in the cells of the organism are presented. Digestion products of the nucleic acids are a valuable source of important signalling and precursor molecules. They may also be utilized to form new nucleic acid molecules in the human body. In recent years, low-molecular weight nucleic acids catch most interest, such as non-coding RNA (ncRNA), which are also present in food. It is suggested that the dietary ncRNA can probably impact the regulation of gene expression in the cells of the gastrointestinal tract, and perhaps in other tissues of the consumer. Both the nutritional value and the impact of nucleic acids consumed on the functioning of the genome and transcriptome suggest the need to look into human nutrition in the context of nutrigenomics.

Key words: nucleic acids, food, nutritional properties, nutrigenomics 

ANETA BRODZIAK, JOLANTA KRÓL, ANNA NOWACZEK

NATURALNE SUBSTANCJE POCHODZENIA ROŚLINNEGO NEGATYWNIE ODDZIAŁUJĄCE NA ZDROWIE KRÓW ORAZ JAKOŚĆ MLEKA

Streszczenie

Celem pracy było omówienie zagrożeń dla zdrowia zwierząt wywołanych przez naturalne substancje szkodliwe, tj. fitotoksyny i mikotoksyny pochodzące z pasz, z uwzględnieniem ich negatywnego wpływu na jakość mleka, a w konsekwencji na zdrowie człowieka. Jako najbardziej szkodliwe związki pochodzące z pasz najczęściej wymieniane są: alkaloidy, glikozydy, saponiny, olejki eteryczne i kwasy organiczne, a także toksyny produkowane przez grzyby pleśniowe. Mniejszą szkodliwością charakteryzują się natomiast: glukozynolany, kumaryny i pochodne furanokumaryny, lektyny, a także fitoestrogeny. Zarówno związki szkodliwe występujące naturalnie w zielonce i w innych paszach objętościowych, jak również mikotoksyny stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia zwierząt, oddziałując na ich produktywność, jak też na jakość surowców, w tym mleka. Największe zagrożenie dla zdrowia zwierząt i ludzi stanowi aflatoksyna B₁ z uwagi na jej udowodnione działanie nowotworowe i mutagenne. Jak wskazują raporty z systemu RASFF, rzadko dochodzi jednak do wystąpienia tego typu zagrożeń. Wynika to z selektywnego pobierania paszy przez zwierzęta, zwłaszcza wypasane, jak również z działań podejmowanych przez hodowców w ramach Dobrych Praktyk Rolniczych.

Słowa kluczowe: toksyny roślinne, mikotoksyny, pasza, mleko, RASFF

Wprowadzenie

Na pastwiskach i łąkach występują m.in. gatunki roślin, które obniżają wartość pokarmową pasz i stanowią źródło substancji szkodliwych dla zdrowia zwierząt. Obecność tych substancji, w tym również trujących – tzw. fitotoksyn, związana jest najczęściej z pełnieniem przez nie różnych funkcji biologicznych w roślinie, tj. obronnych przed chorobami, szkodnikami, pasożytami i niesprzyjającymi warunkami pogo-

*Dr A. Brodziak, inż. A. Nowaczek, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, dr hab. inż. J. Król, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin.
Kontakt: aneta.brodziak@up.lublin.pl*

dowymi czy ochronnych przed urazami mechanicznymi. Związki te spożywane z roślinami przez zwierzęta działają w mniejszym lub większym stopniu szkodliwie na ich zdrowie [5, 7, 16]. Pobrane w małych ilościach zazwyczaj nie są szkodliwe, a nawet mogą korzystnie wpływać na organizm, np. fitoestrogeny. Związki toksyczne wytwarzane przez rośliny mogą być spożywane przez zwierzęta przypadkowo, często jednorazowo, jak i mogą być pobierane wraz z codzienną dawką pokarmową, kumulując się w organizmie. Nadmierna dawka związków szkodliwych, przykładowo w praktyce gospodarskiej spowodowana nieodpowiednim doбором gatunkowym roślin czy niewłaściwymi warunkami przechowywania pasz, może niekorzystnie wpływać na zdrowotność i produktywność zwierząt, a w konsekwencji również na jakość surowców [2, 18, 24, 31]. Odgrywa to szczególną rolę w produkcji mleka w systemach tradycyjnym i ekologicznym, w których zwierzęta w okresie wiosenno-letnim przebywają na pastwisku, a w sezonie jesienno-zimowym podstawę ich żywienia stanowi siano i sianokiszonka. W polskich warunkach klimatycznych zagrożenie ze strony naturalnych związków szkodliwych jest o wiele mniejsze niż w klimacie tropikalnym, w którym występuje większa różnorodność gatunkowa roślin szkodliwych, w tym trujących.

Ogromne straty ekonomiczne w rolnictwie powoduje rozwój toksynotwórczych grzybów pleśniowych w paszach [30]. Według szacunków FAO ok. 25 % ziarna zbóż na świecie, a według niektórych źródeł nawet do 40 %, jest skażone co najmniej jedną mikotoksyną. W przypadku kiszzonek udział prób skażonych różnymi rodzajami grzybów pleśniowych jest znacznie wyższy [13].

Celem pracy było omówienie zagrożeń dla zdrowia zwierząt wywołanych przez naturalne substancje szkodliwe, tj. fitotoksyny i mikotoksyny pochodzące z pasz, z uwzględnieniem ich negatywnego wpływu na jakość mleka, a w konsekwencji na zdrowie człowieka.

Regulacje prawne dotyczące naturalnych składników toksycznych właściwych dla roślin w paszach

Pasze jako źródło niezbędnych dla zwierząt składników pokarmowych są często również nośnikiem składników niepożądanych lub nawet szkodliwych. W celu ochrony zdrowia zwierząt przed nadmiernym wpływem tych substancji wydano szereg aktów prawnych, zarówno na poziomie europejskim, jak i krajowym, regulujących wymagania jakościowe dotyczące pasz. Zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 767/2009 z dnia 13 lipca 2009 r. [22] jedynie pasze bezpieczne, niewywierające bezpośredniego negatywnego wpływu na środowisko lub dobrostan zwierząt, w niezmienionym stanie, bez zafałszowań i o właściwej jakości handlowej mogą być wprowadzane na rynek i stosowane w żywieniu zwierząt.

W Polsce głównym aktem prawnym określającym wymagania dla producentów pasz jest Ustawa o paszach z dnia 22 lipca 2006 roku [28] z późniejszymi zmianami,

wykonująca postanowienia szeregu dyrektyw Wspólnoty Europejskiej w tym zakresie. Zgodnie z artykułem 15. tej ustawy zabrania się wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt substancji i produktów, zwanych „substancjami niepożądanymi”, stanowiących potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi lub zwierząt, dla środowiska oraz wpływających niekorzystnie na jakość produktów pochodzenia zwierzęcego w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość. Zabrania się również wytwarzania mieszanek paszowych z materiałów paszowych, które zawierają substancje niepożądane w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość. Do substancji niepożądanych w paszach zgodnie z przepisami prawa zalicza się: zanieczyszczenia nieorganiczne i związki azotu, mikotoksyny, toksyny właściwe dla roślin, związki z grupy węglowodorów chlorowanych, dioksyny i PCB, szkodliwe zanieczyszczenia biologiczne oraz dodatki paszowe, których obecność wskutek nieuniknionego zanieczyszczenia krzyżowego jest dozwolona w paszy, dla której nie są one przeznaczone. Najwyższe dopuszczalne zawartości substancji niepożądanych w paszach, zgodnie z delegacją ustawy, określił Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi Rozporządzeniem z dnia 6 lutego 2012 r. w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach [20] z późniejszymi zmianami.

Chemiczne grupy związków szkodliwych występujących w roślinach spożywanych przez krowy

Źródłem wielu szkodliwych substancji chemicznych dla zwierząt mogą być same rośliny, które stanowią komponent pasz, tj. skrzyp błotny, ciemnyca biała i zielona, jaskier jadowity, marek szerokolistny, rdest ostrogorzki, wilczomlecz sosnka czy zimowit jesienny. Występowanie i ilość szkodliwych roślin na łąkach i pastwiskach zależy od wielu czynników, m.in. pory roku, rodzaju gleby, jej usytuowania, nasłonecznienia, wilgotności oraz sposobu eksploatacji [7, 16, 24]. Należy przy tym zaznaczyć, że większość z tych roślin często występuje na terenach podmokłych i bagiennych, do których krowy mają ograniczony dostęp, a w związku z tym rzadziej je spożywają z zielonką. Rośliny szkodliwe mogą być jednak gromadzone w większych ilościach w paszach zimowych wytwarzanych na bazie zielonki, tj. w sianie i sianokiszonce.

Toksyczne właściwości roślin występujących w paszach dla zwierząt są uzależnione od rodzaju, stężenia, a także miejsca (części rośliny) występowania substancji aktywnych. Jako najbardziej szkodliwe najczęściej wymieniane są: alkaloidy, glikozydy, saponiny, olejki eteryczne oraz kwasy organiczne. Mniejszą szkodliwością charakteryzują się natomiast: glukozynolany, kumaryny i pochodne furanokumaryny, lektyny, a także fitoestrogeny [5, 12, 15, 24, 26].

Alkaloidy

Alkaloidy stanowią grupę związków najczęściej wymienianych jako szkodliwe dla zwierząt. Występują one w roślinach w postaci soli kwasów organicznych. Powstają przede wszystkim w wyniku przemian metabolicznych aminokwasów. Zazwyczaj klasyfikowane są według budowy chemicznej (np. alkaloidy pirolizydynowe, pochodne pirydyny i piperydyny, steroidowe czy chinolinowe) lub pochodzenia (np. alkaloid maku, tytoniu, starca czy tojadu). Grupy szkodliwych alkaloidów występujących w roślinach spożywanych przez zwierzęta przedstawiono w tab. 1. Bardzo liczną grupę stanowią alkaloidy pirolizydynowe (pochodne pirolizydyny), które znajdują się w roślinach z rodziny *Asteracea*, a także z podrodzin *Senecioideae* i *Eupatorieae*. Przykładem roślin stanowiących źródło tych alkaloidów, występujących powszechnie na łąkach i pastwiskach, są: starzec, heliotrop czy krotolaria. Zawarte są także w popularnym surowcu leczniczym, jakim jest podbiał pospolity. Dodatkowym źródłem szkodliwych alkaloidów pirolizydynowych mogą być preparaty ziołowe. Ogólnie alkaloidy należą do związków silnie pobudzających ośrodkowy układ nerwowy i korę mózgową. Ich działanie polega m.in. na rozszerzaniu naczyń krwionośnych. Wśród alkaloidów pirolizydynowych znajdują się także związki o właściwościach kancerogennych i mutagennych. W związku z tym Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wyznaczył następujące alkaloidy pirolizydynowe jako markery skażonej żywności i pasz: *Senecio* spp.: acetylerucifolina, erucifolina, jakobina, jakolina, jakonina, jakozyna, retrorsyna, senecionina, seneciofilina; *Echium* spp.: echimidyna, echiwulgaryna, wulgaryna; *Heliotropium* spp.: europina, heliotrina, lasiokarpina, izomerylykopsaminy; *Crotalaria*: fulwina, monokrotalina, retusamina, trichodesmina; *Boraginaceae* i *Eupatorium* spp.: acetylechimidyna, echimidyna, lykopsamina [9]. EFSA zaleciła zgromadzenie danych dotyczących występowania alkaloidów pirolizydynowych w żywności (w tym w mleku) i materiałach paszowych w celu określenia kryteriów analizy tych alkaloidów. Również w ramach Kodeksu Żywnościowego (*Codex Alimentarius*) podjęto prace dotyczące alkaloidów pirolizydynowych, tj. powołano grupę roboczą, której zadaniem jest opracowanie wytycznych i zasad postępowania dotyczących kontroli zachwaszczenia roślinami zawierającymi wspomniane alkaloidy w celu zredukowania zanieczyszczenia pasz i żywności [8, 12].

Działanie toksyczne wykazują również alkaloidy steroidowe należące do glikoalkaloidów będących połączeniem alkaloidów z jedną lub kilkoma cząsteczkami cukru. Związki te obecne są w roślinach należących do rodziny *Solanacea*, przykładowo alfa-solanina i alfa-czakonina w ziemniaku czy tomatyna w pomidorze. Najwięcej solaniny znajduje się w owocu ziemniaka – zielonej, niejadalnej jagodzie. Jej zawartość w kielkach dochodzi do 500 mg/100 g. W przypadku stosowania w żywieniu krów ziemniaków, zwłaszcza pozieleniałych, nie należy podawać ich na surowo. W trakcie gotowa-

nia zawarta w nich szkodliwa solanina przechodzi do wody, tym samym nie stanowi zagrożenia dla zdrowia [5].

Alkaloidy zawarte w paszy mogą przedostawać się do mleka a z produktami mlecznymi do organizmu człowieka [5, 7, 29].

Tabela 1. Grupy szkodliwych alkaloidów występujących w roślinach spożywanych przez zwierzęta, z uwzględnieniem substancji aktywnej, ich występowania oraz działania farmakologicznego

Table 1. Groups of harmful alkaloids present in plants consumed by animals including active substances, their occurrence and pharmacological action

Grupa związków Group of compounds	Substancja czynna Active substance	Występowanie Occurrence	Działanie Effect	Źródło Reference
Alkaloidy pirolizydynowe Pyrrolizidine alkaloids	acetylerucifolina, erucifolina, jakobina, jakolina, jakonina, jakozyna, retrorsyna, senecionina, seneciofilina	starzec (<i>Senecio spp.</i>)	brak apetytu, utrata masy ciała, agresywne zachowanie, brak koordynacji, biegunka, nadwrażliwość na światło, powiększenie i/lub uszkodzenie wątroby, marskość wątroby, działanie kancerogenne	[8, 12]
	europina, heliotrina, lasiokarpina, izomery lykopsaminy	heliotrop (<i>Heliotropum spp.</i>)		
	acetylokopsamina, senecionina, seneciofilina, senkirkina, retrorsyna, riddelina, monokrotalina, lasiokarpina, jakonina, jakobina, hellosupina, heliotrina	krotalaria (<i>Crotalaria spp.</i>)		
	echimidyna, echiwulgaryna, wulgaryna,	zmijowiec (<i>Echium spp.</i>)		
	acetylechimidyna, echimidyna, lykopsamina	ogórecznikowate (<i>Boraginaceae spp.</i>) sadziec (<i>Eupatorium spp.</i>)		
Alkaloidy – pochodne pirydyny i piperydyny Alkaloids – pyridine and piperidine derivatives	solaceina, solaneina	psianka (<i>Solanum</i>)	zwierzęta giną w wyniku silnych skurczów	[5, 26]
	lupinina, hydroksylupilina, lupinidyna, lupanina	łubin żółty (<i>Lupinus luteus</i>) – najczęściej uprawiany łubin biały (<i>Lupinus albus</i>) łubin wąskolistny (<i>Lupinus angustifolius</i>)	właściwości toksyczne, zatrucia ostre po kilkukrotnym zjedzeniu dużej ilości ziarna, nieodwracalne zmiany w narządach, wysoka śmiertelność (nawet do 50 %)	[26]

	nikotyna	tytoń (<i>Nicotiana tabacum</i>)	właściwości toksyczne – stanowi min. 5 % całkowitej masy tej rośliny, a dawka trująca dla bydła to 0,5 ÷ 2,0 kg zielonych liści	[26]
	konina, gammakoniceina	szczwół plamisty (<i>Conium maculatum</i>)	drżenie mięśni szkieletowych, bezwład, porażenie mięśni oddechowych, rozszerzenie źrenic, sinica, biegunka, ból brzucha, mysi zapach moczu	[16]
Alkaloidy steroidowe Steroidal alkaloids	solanina	ziemniak (<i>Solanum tuberosum</i>) – zwłaszcza części zielone	mdłości, wymioty, zaburzenia żołądkowo-jelitowe z kolką i biegunką, bóle głowy, niepokój, zaburzenia krążenia i oddychania, rozszerzenie źrenic, otępienie, brak odruchów, nieżytowe i krwotoczne zapalenie przewodu pokarmowego	[6, 26]

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

Glikozydy

Glikozydy stanowią grupę związków organicznych składających się z części cukrowej i glikonowej. Produktami ich rozpadu są najczęściej: cukier, puryny, cyjanowodór, florentyna, hydrochinon i ester metylowy kwasu salicylowego. Ogólnie wyróżnia się glikozydy cyjanotwórcze, kumarynowe i saponinowe. Szczególną uwagę należy zwrócić na glikozydy cyjanotwórcze, zawierające grupy cyjanowe, które pod wpływem β -glukozydazy ulegają degradacji do cyjanowodoru – jednej z najsilniejszych trucizn. Glikozydy te występują w wielu gatunkach roślin powszechnie stosowanych w żywieniu krów, tj. w koniczynie szwedzkiej i czerwonej, w lucernie białej czy w wyce siewnej. Wykazują powinowactwo do hemoglobiny, przyczyniając się do niedotlenienia tkanek. Glikozydy cyjanotwórcze wywołują porażenia ośrodkowego układu nerwowego [5, 26].

Wiele glikozydów wykazuje działanie bakteriostatyczne, np. synigryna występująca w chrzanie. Niejednokrotnie glikozydy charakteryzują się ostrym zapachem i smakiem, co również może wpływać na jakość surowców [5, 16, 24].

Saponiny

W wielu roślinach saponiny występują w postaci glikozydów (glikozydy saponinowe). Zbudowane są z aglikonu, czyli sapogeniny połączonej z resztą cukrową wią-

zaniem *O*-glikozydowym lub estrowym. W dużej ilości występują w burakach ćwikłowych, ziemniakach, kąkolu, owsie, lucernie, soi i szpinaku, a także w innych roślinach paszowych. Wykazują one zdolność zmniejszania napięcia powierzchniowego. Negatywnym skutkiem działania glikozydów saponinowych jest hemoliza krwi, rozpad krwinek czerwonych, wymioty i biegunka, a także podrażnienie lub nawet uszkodzenie błon śluzowych. Saponiny są związkami trudno wchłaniającymi się z przewodu pokarmowego, lecz ułatwiają wchłanianie innych substancji [5, 24].

Kumaryny i pochodne furanokumaryny

Przykładem związku reprezentującego tę grupę jest kumaryna. Pod względem chemicznym stanowi lakton kwasu *cis-o*-hydroksycynamonowego, dlatego zaliczana jest do laktonów. Kumaryny mogą występować w postaci wolnej lub glikozydowej (glikozydy kumarynowe). Kumaryna powszechnie występuje w trawach porastających łąki i pastwiska (przykładowo w nostrzyku (*Melilotus hill*)) oraz w roślinach motylkowych, jasnotowatych i storczykowatych. W związku z tym w większej ilości jest również często obecna w sianie. Wpływa na rozszerzanie naczyń krwionośnych, a także działa rozkurczowo, przeciwbakteryjnie, przeciwzapalnie i uspokajająco. Wskazuje się, że nie jest toksyczna dla zwierząt i człowieka. Kumaryna przekształcana jest w dikumarol, który hamuje wytwarzanie protrombiny we krwi, a w związku z tym obniża krzepliwość krwi (właściwości przeciwzakrzepowe). Z drugiej strony działa hepatotoksycznie, a także depresyjnie na układ nerwowy, wywołuje reakcje fotouczuleniowe, chorobę krwotoczną u bydła, wybroczyny i wylewy do jam ciała [24, 26].

Do grupy związków kumarynowych zaliczane są również trójpierścieniowe związki, w których pierścień furanowy połączony jest z kumaryną za pomocą różnych atomów węgla, tj. solareny, allopsolareny i izopsolareny. Związki te występują w warzywach z rodziny *Umbeliferae*, np. w selerze, pietruszce, pasternaku czy lubczyku. Uznawane są za naturalne fungicydy. Niejednokrotnie wskazuje się na ich działanie fotouczulające [5, 24].

Olejki eteryczne

Pod względem budowy chemicznej olejki eteryczne stanowią mieszaninę różnych związków organicznych alifatycznych i aromatycznych, tj. alkoholi, terpenów, fenoli, węglowodorów, ketonów, aldehydów i estrów. Występują w kwiatach, liściach, korzeniach, łodygach, kłaczach, owocach i nasionach roślin, zarówno dzikich, jak i uprawowych [16, 24]. Spośród roślin występujących w Polsce zawierających olejki eteryczne należy wymienić: jałowiec zwyczajny, wrotycz pospolity, tuję, bagno zwyczajne, bylicę piołun, miętę pieprzową i szalwię lekarską. Olejki zawarte w tych roślinach spełniają funkcje lecznicze, lecz ich nadmierne spożycie może oddziaływać toksycznie na organizm krów [26]. Szczególnie toksyczny jest olejek wrotyczu pospolitego zawiera-

jący jako substancję czynną tujon. Związek ten jest szkodliwy dla ośrodkowego układu nerwowego [29].

Lektyny

Lektyny określane są jako substancje białkowe, a występują najczęściej w formie glikoproteidów. Ich źródło stanowią: groch, fasola, soja, zboża, ale również pomidory i ziemniaki. W związku z tym, że wywołują niekorzystny wpływ na układ krwionośny i system immunologiczny (np. fazeina zawarta w grochu czy wicina i konwicina w bobie) nasiona roślin strączkowych nie powinny być spożywane przez zwierzęta w postaci surowej [5, 7].

Fitoestrogeny

Do tej grupy związków o niejednorodnej budowie chemicznej zaliczane są: izo-flawony, flawonoidy, kumaryny, lignany i benzofuranokumaryny. Ich źródło stanowią: nasiona soi, słonecznika i lnu, a także lucerna, orzechy i owoce jagodowe. Związki te odznaczają się dużą aktywnością hormonalną, w związku z czym mogą być czynnikiem zaburzającym czynności endokrynne w organizmie [5].

Glukozynolany

Glukozynolany to bardzo zróżnicowana grupa anionowych związków organicznych. W roślinach występują w postaci glikozydowej. Glukozynolanami określa się grupę związków występujących w dużej ilości w roślinach z rodziny kapustowatych (*Brassicacea*), tj. w kapuście białej i czerwonej, kapuście pekińskiej, brukselce, kalafiorze, brokule, rzodkwi, rzodkiewce, kalarepie, chrzanie, a przede wszystkim w rzepaku, rzepiku i gorczycy. Stanowią one wtórne metabolity roślin. Związki te ogólnie nazywane są składnikami przeciwżywniowymi pasz. Nie są one bezpośrednio szkodliwe dla krów, ale pod wpływem enzymu (mirozynazy) ulegają rozkładowi do toksycznych substancji (nitryli, tiocyjanianów i izotiocyjanianów). Co ważne, w żwaczu krów i innych zwierząt przeżuwających następuje proces ich neutralizacji, dzięki czemu nie stanowią zagrożenia dla zdrowia [5, 15].

Przepisy prawa paszowego [20, 21] określają jedynie maksymalne poziomy w odniesieniu do 5 toksyn właściwych dla roślin, tj. gossypolu, kwasu cyjanowodorowego, teobrominy, winylotiooksazolinu i lotnego olejku gorczycznego (tab. 2). W przypadku winylotiooksazolidonu ograniczenia dotyczą jedynie pasz stosowanych dla drobiu.

Tabela 2. Substancje toksyczne niepożądane w paszach, podlegające kontroli

Table 2. Undesirable toxic substances in animal feed, under the control

Grupa związków Group of compounds	Substancja czynna Active substance [21]	Max. zawartość dla bydła mlecznego Max. content for dairy cattle [mg/kg] [21]	Występowanie Occurrence	Działanie Effect
Gossypol Gossypol	gossypol (wolny)	500	nasiona bawełny (<i>Gossypium</i>)	dorośle bydło toleruje gossypol w ilości do 800 mg/kg paszy, w ostrym zatruciu – śmierć zwierząt [26]
Glikozydy cyjanogenne Cyanogenic glycosides	kwask pruski (kwask cyjanowodorowy)	50	wyka siewna (<i>Viciasativa</i>), fasola (<i>Phaseolus</i>), koniczyna szwedzka (<i>Trifolium hybridum</i>), koniczyna czerwona (<i>Trifolium pratense</i>), lucerna biała (<i>Medicago album</i>)	hamowanie aktywności oksydazy cytochromowej, blokowanie oddychania komórkowego, dawka śmiertelna dla zwierząt 1-3 mg/ kg m.c. [5, 26]
Teobromina (alkaloid purynowy) Theobromine (a purine alkaloid)	teobromina	300	kawa (<i>Coffea</i>), herbata (<i>Camellia</i>)	silne pobudzenie ośrodkowego układu nerwowego i kory mózgowej, rozszerzenie naczyń krwionośnych [5]
Lotne olejki allilowo-gorzecyzne Volatile allyl-mustard oils	winyliotiooksazolidon izotiocyjanian allilu	- 1000	kapusta (<i>Brassica spp.</i>), gorczyca (<i>Sinapis</i>), rzepak (<i>Brassica napus L. var. napus</i>), lnianka siewna (<i>Camelina sativa</i>)	zaburzenia w gospodarce jodowej, zmiany czynnościowe i morfologiczne tarczycy [26]

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

W przypadku wypasanych krów, kóz i owiec występowanie substancji szkodliwych w pobieranej paszy spowodowane jest najczęściej nieodpowiednim składem gatunkowym runi pastwiskowej i łąkowej. W efekcie może dochodzić do pogorszenia zdrowotności i produktywności zwierząt, a w rezultacie jakości pozyskiwanego mleka (tab. 3). Wiele z tych szkodliwych substancji czynnych wykazuje właściwości toksyczne, dlatego w przypadku przenikania do mleka stanowią zagrożenie dla zdrowia konsumenta, np. alkaloidy, w tym geramina i germeryna, cykutotoksyna czy rycyna. Substancje szkodliwe, w tym toksyczne, z roślin prowadzą również do pogorszenia

walorów smakowo-zapachowych surowca i produktów wytwarzanych na jego bazie, co w rezultacie prowadzi do braku akceptacji takich wyrobów przez konsumentów. Przykładowo alkaloidy nadają gorzki smak mleku, a w konsekwencji również produktom mlecznym.

Tabela 3. Związki szkodliwe naturalnie występujące w roślinach i ich oddziaływanie na produkcję mleka i jego jakość

Table 3. Harmful compounds naturally occurring in plants and their harmful effect on milk production and quality

Występowanie Occurrence	Związki szkodliwe Harmful compounds	Wpływ na produkcję mleka i jego jakość / Effect on milk production and quality
Skrzyp błotny / Marsh horsetail (<i>Equisetum palustre</i>)	alkaloidy, m.in. palustryna, palustrydyna, ekwisetyna	zmniejszona produkcja mleka, gorzki smak mleka
Turzyca / Sedge (<i>Carex</i>)	krzemionka	zmniejszona produkcja mleka, wodnistość, zmiana barwy mleka
Szczwółk plamisty / Hemlock (<i>Conium maculatum</i>)	konina, gammakoniceina	mysi zapach mleka
Kapusta / Cabbage (<i>Brassica</i>)	lotne olejki allilowo-gorzyczne	pogorszenie zapachu i smaku mleka
Marek szerokolistny Great water-parsnip (<i>Sium latifolium</i>)	olejki eteryczne, limonen, fenolokwasy, związki narkotyczne	pogorszenie jakości mleka, działanie narkotyczne mleka
Wilczomlecz sosnka Cypress spurge (<i>Euphorbia cyparissias</i>)	saponiny, kwasy organiczne – galusowy i jabłkowy	mleko pozyskiwane od krów karmionych sianem zawierającym ponad 40 % wilczomleczu zmienia barwę i jest trujące dla człowieka
Ciemnocyfka zielona Green corn lily (<i>Veratrum lobelianum</i> Bernh)	alkaloidy, w tym geramina i germeryna	mleko szkodliwe dla człowieka
Jaskier jadowity Celery-leaved buttercup (<i>Ranunculus scleratus</i>)	protoanemonina, anemoniny I ranunculina	mleko szkodliwe dla człowieka
Szalec jadowity / Cowbane (<i>Cicuta virosa</i>)	cykutotoksyna, cykutol	mleko szkodliwe dla człowieka
Komosa biała / Lamb's quarters (<i>Chenopodium album</i>)	alkaloidy, olejki eteryczne	mleko szkodliwe dla człowieka
Rącznik pospolity / Castorbean (<i>Ricinus communis</i>)	rycyna	dawka śmiertelna dla człowieka to 200 mg
Zimowit jesienny Autumn crocus (<i>Colchicum autumnale</i>)	kolchicina	dawka śmiertelna dla człowieka to 20 - 40 mg

Źródło: opracowanie własne na podstawie [2, 16, 24, 26, 31] / Source: authors' own study on the basis of [2, 16, 24, 26, 31]

Mikotoksyny

Mikotoksyny stanowią związki wytwarzane przez pleśnie, zwłaszcza z rodzaju *Aspergillus*, ale także przez *Penicillium* i *Fusarium*. Do powszechnie występujących w paszach dla zwierząt zalicza się: aflatoksyne (głównie B₁), jak również ochratoksynę A i zearalenon.

Pasze dla zwierząt mogą ulec zanieczyszczeniu w każdym momencie, począwszy od rozwoju roślin na polu, poprzez zbiór, jak też w czasie obróbki, przechowywania i transportu. Składniki pasz mogą przechodzić do tkanek zwierzęcych i mleka, dlatego też skarmiane pasze powinny charakteryzować się wysoką jakością, wartością żywieniową i czystością mikrobiologiczną [25, 32]. Niejednokrotnie ruń łąkowa i pastwiskowa mogą być porażona pleśniami, w następstwie czego zielonka spożywana przez krowy zawiera ich metabolity. Kiszonki także mogą stanowić źródło mikotoksyn, które są wprowadzane z zanieczyszczonym surowcem poddawany zakiszaniu lub są wytwarzane przez pleśnie rozwijające się w czasie nieprawidłowo prowadzonego procesu kiszenia [1, 26]. Szacuje się, że ok. 25 % upraw na świecie jest zanieczyszczonych grzybami pleśniowymi lub mikotoksynami, które mogą być produkowane zarówno przed zbiorem, jak i po nim [3].

Największe zagrożenie dla zdrowia zwierząt i ludzi stanowi aflatoksyna B₁ z uwagi na jej udowodnione działanie kancerogenne i mutagenne [10, 31]. Krowy karmione paszą zanieczyszczoną aflatoksyną B₁ metabolizują ją w wątrobie do mniej toksycznego metabolitu – aflatoksyny M₁, która jest wydzielana wraz z mlekiem. Zaobserwowano tendencję do wzrostu poziomu tej aflatoksyny w mleku krów w okresie żywienia zimowego [30]. Aflatoksyna M₁ jest również spotykana w mleku kobiet spożywających produkty mleczne zanieczyszczone tą mikotoksyną [27]. Należy zaznaczyć, że aflatoksyna M₁, zarówno w mleku surowym, jak i w przetworach mlecznych, jest trwała i nie ulega rozkładowi podczas obróbki cieplnej (pasteryzacji, sterylizacji UHT) i dalszych etapów produkcji wyrobów mlecznych, tj. serów, masła czy śmietany [11, 14].

Mikotoksyny przyczyniają się do rozwoju wielu chorób u zwierząt i ludzi, m.in. grzybic i mikotoksykoz [1, 4, 17]. Co ważne, Międzynarodowa Agencja ds. Badań nad Rakiem zaklasyfikowała aflatoksyne B₁ i M₁ jako związki kancerogenne [10]. W celu ochrony zdrowia zwierząt i jakości pozyskiwanych surowców określono maksymalną zawartość aflatoksyny B₁ w materiałach paszowych na poziomie 0,02 mg/kg, a w mieszankach paszowych dla bydła mlecznego – 0,005 mg/kg [20]. Z uwagi na negatywne oddziaływanie aflatoksyny B₁ na organizm ludzki Komisja Europejska ustaliła najwyższe dopuszczalne poziomy aflatoksyny M₁ – metabolitu aflatoksyny B₁ w mleku. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1831/2003 [23] z późniejszymi zmianami w mleku surowym i poddanym obróbce cieplnej jej poziom nie może przekraczać 0,050 µg/kg, a w preparatach do żywienia niemowląt – 0,025 µg/kg.

W celu zapewnienia bezpieczeństwa żywności i pasz w krajach Unii Europejskiej w ramach systemu RASFF (System Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach) prowadzi się stały monitoring poziomu szkodliwych zanieczyszczeń w produktach znajdujących się w obrocie. W systemie tym nie odnotowano zgłoszeń dotyczących przekroczenia zawartości toksyn właściwych dla roślin w paszach. Głównie notowane są zgłoszenia dotyczące aflatoksyny B₁. Po analizie zgłoszeń do systemu RASFF w latach 2006 ÷ 2016 zauważono, że większość alertów dotyczyła kukurydzy jako materiału paszowego. Łącznie zgłoszeń tych było 21, z czego aż 10 pochodziło z Niemiec [19]. Najczęściej kwestionowano materiały paszowe na bazie kukurydzy pochodzące z Bułgarii, Serbii i Rumunii. Spośród tych zgłoszeń 2 (z lat 2013 i 2015) dotyczyły Polski. W tym okresie dokonano również 3 zgłoszeń typu alert dotyczących zearalenonu w paszach dla zwierząt hodowlanych, tj. w soi z Argentyny – 2 i w kukurydzy z Francji – 1.

Tabela 4. Powiadomienia z systemu RASFF dotyczące występowania aflatoksyny M₁ w mleku i w produktach mlecznych w latach 2006 ÷ 2016

Table 4. RASFF notifications on occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products in the years 2006 - 2016

Rodzaj i liczba powiadomień Type and number of notifications	Kraj zgłaszający Reporting country	Kraj pochodzenia i rok Country of origin and year	Wykryty poziom Detected level	Produkt Product
Powiadomienia alarmowe Alert notifications – 5	Włochy	Włochy – 2016	0,152 µg/l	mleko i produkty mleczne
		Włochy – 2014	b.d.	mleko surowe
		Węgry – 2013	0,121 µg/kg	mleko surowe
		Węgry – 2012	0,063 - 0,073 µg/kg	mleko surowe
		Węgry (przez Słowację) – 2007	0,43 - 0,45 µg/kg	mleko surowe
Powiadomienia informacyjne godne uwagi – typu news Noteworthy information notifications of news type – 2	Włochy	Węgry – 2012	0,095 µg/kg	mleko surowe
		Słowenia – 2012	0,183 µg/kg	mleko surowe
Powiadomienia informacyjne Information notifications to follow-up – 2	Słowenia	Węgry – 2012	0,074 µg/kg	mleko surowe
	Włochy	Węgry – 2012	0,072 µg/l	mleko surowe

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [19] / Source: authors' own study on the basis of: [19]

W systemie RASFF notowane są także zgłoszenia dotyczące przekroczenia omawianych aflatoksyn w mleku i produktach mlecznych. W latach 2006 ÷ 2016 wszystkich powiadomień z tego zakresu było 9, z czego większość zgłosiły Włochy (tab. 4).

Podsumowanie

Związki szkodliwe naturalnie występujące w zielonce i w innych paszach objętościowych, jak również mikotoksyny, stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia zwierząt, oddziałują na ich produktywność, jak też jakość surowców, w tym mleka. Z kolei kumulacja substancji toksycznych w pozyskiwanym mleku prowadzi do zmniejszenia bezpieczeństwa zdrowotnego produkowanych wyrobów mlecznych, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia konsumenta. Jak wskazują raporty z systemu RASFF, rzadko jednak dochodzi do wystąpienia tego typu zagrożeń. Wynika to z faktu, że krowy pobierają pasze w sposób selektywny, omijając instynktownie rośliny o niepożądanym smaku i zapachu, wśród których znajdują się również działające szkodliwie i toksycznie. Dotyczy to zwłaszcza zwierząt wypasanych na pastwiskach i łąkach lub otrzymujących zielonkę. Większe prawdopodobieństwo wprowadzenia tych substancji związane jest ze stosowaniem pasz konserwowanych, głównie kiszonek sporządzanych z runi łąkowej czy kukurydzy. Kolejną ochroną zwierząt przeżuujących przed wprowadzeniem substancji szkodliwych do organizmu jest proces trawienia, co prowadzi do zmniejszenia aktywności substancji szkodliwych w surowcach zwierzęcych, w tym w mleku. Należy również pamiętać o działaniach podejmowanych przez hodowców w ramach Dobrych Praktyk Rolniczych. Mają one na celu zapobieganie omawianym zagrożeniom poprzez eliminację gatunków niepożądanych czy zapewnienie właściwych warunków przechowywania pasz.

Literatura

- [1] Asher R.: Zatrucie mikotoksynami krów mlecznych – opis przypadków. *Mikol. Lek.*, 2008, 15 (3), 180-185.
- [2] Borys B.: Substancje antyżywniowe w paszach roślinnych dla kóz. *Wiad. Zoot.*, 2007, XLV (1-2), 55-65.
- [3] Bryden W.L.: Mycotoxins in the food chain: Human health implications. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2007, 16, 95-101.
- [4] Cortinovis C., Pizzo F., Spicer L.J., Caloni F.: Fusarium mycotoxins: Effects on reproductive function in domestic animals – A review. *Theriogenology*, 2013, 80, 557-564.
- [5] Czerwiecki L.: Rośliny jako źródło naturalnych substancji szkodliwych dla zdrowia. *Roczn. PZH*, 2005, 3, 215-227.
- [6] Dzwolak W.: Natura nie zawsze zdrowa. Toksyny naturalne w żywności. *Bezp. Hig. Żywn.*, 2008, 3 (56), 32-33.
- [7] Dzwolak W.: Pasze jako potencjalne źródło biologicznych zagrożeń bezpieczeństwa żywności w produkcji mleka. *Przegl. Mlecz.*, 2014, 6, 29-35.

- [8] Edgar J.A., Colegate S.M., Boppré M., Molyneux R.J.: Pyrrolizidine alkaloids in food: A spectrum of potential health consequences. *Food Addit. Contam.*, 2011, 28, 308-324.
- [9] EFSA: Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA J.*, 2011, 9, 1-134.
- [10] International Agency for Research on Cancer and World Health Organization: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Vol. 82. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. IARC Press, Lyon 2002, pp. 171-176.
- [11] Kamkar A.: The study of aflatoxin M1 in UHT milk samples by ELISA. *J. Vet. Res.*, 2008, 63 (2), 7-12.
- [12] Kowalczyk E., Patyra E., Kwiatek K.: Alkaloidy pirolizydynowe zagrożeniem dla zdrowia ludzi i zwierząt. *Med. Weter.*, 2015, 71 (10), 602-607.
- [13] Krzyżewski J.: Składniki antyodżywcze w dietach krów mlecznych. *Bydło*, 2008, 4, 8-13.
- [14] Oliveira C.A.F., Ferraz J.C.O.: Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurised, UHT milk and milk powder from goat origin. *Food Control*, 2008, 18 (4), 375-378.
- [15] Patyra E., Kwiatek K.: Glukozynolany – składniki antyżywniowe pasz. *Życie Weter.*, 2015, 90 (10), 674-677.
- [16] Piastowska A.: Rośliny szkodliwe dla zwierząt gospodarskich. *Magazyn Weter.*, 2005, 14 (99), 45-50.
- [17] Pławińska-Czarnak J., Zarzyńska J.: Mikotoksyny w żywności pochodzenia zwierzęcego. *Mikol. Lek.*, 2010, 17 (2), 128-133.
- [18] Radkowska I.: Wykorzystanie ziół i fitogenicznych dodatków paszowych w żywieniu zwierząt gospodarskich. *Wiad. Zoot.*, 2013, LI (4), 117-124.
- [19] RASFF: Food and Feed Safety Alerts, 2016. [on line]. Dostęp w Internecie [10.12.2016]: <http://ec.europa.eu/food/safety/rasff>
- [20] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 lutego 2012 r. w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach. *Dz. U.* 2012 r., poz. 206 z późn. zm.
- [21] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 sierpnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach. *Dz. U.* 2014 r., z 11.09.2014 r., poz. 1213.
- [22] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 767/2009 z dnia 13 lipca 2009 r. w sprawie wprowadzania na rynek i stosowania pasz. *Dz. U. UE L* 229/2, z 01.09.2009 r.
- [23] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. U. UEL* 364/6, z 20.12.2006 r.
- [24] Smoczyński S.S.: Naturalne związki szkodliwe przechodzące z paszy do mleka i produktów mlecznych. *Przeg. Mlecz.*, 2015, 5, 34-40.
- [25] Suterska A.M., Zielińska K.J., Grzybowski R.A., Stecka K.M., Miecznikowski A.H., Kupryś M.P.: Wpływ wybranych szczepów z rodzaju *Lactobacillus* na ograniczenie skażenia pleśniami i ochratoksyną A kiszonek z runi łąkowej. *J. Res. Appl. Agr. Eng.*, 2009, 53 (4), 125-130.
- [26] Szkoda J.: Rośliny toksyczne dla zwierząt. *Życie Weter.*, 2008, 83 (6), 468-470.
- [27] Tchana A.N., Moundipa P.F., Tchouanguep F.M.: Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2010, 124 (1), 178-188.
- [28] Ustawa o paszach z dnia 22 lipca 2006 roku. *Dz. U. Nr* 144, poz. 1045 z późn. zm. (*Dz. U.* z 2014 r. poz. 398, *Dz. U.* z 2015 r. poz. 1893).
- [29] Wolski T., Zwolan W., Gliński Z.: Rośliny szkodliwe dla ludzi i zwierząt. *Annales UMCS. Sectio DD: Medicina Veterinaria*, 2004, 59, 67-74.
- [30] Wróbel B.: Zagrożenia zwierząt i ludzi toksynami grzybów pleśniowych zawartych w paszach i żywności. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 2014, 14 (3), 159-176.

- [31] Zachariasova M., Dzumana Z., Veprikova Z., Hajkova K., Jiru M., Vaclavikova M., Zachariasova A., Pospichalova M., Florian M., Hajslova J.: Occurrence of multiple mycotoxins in European feeding stuffs, assessment of dietary intake by farm animals. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2014, 193, 124-140.
- [32] Zielińska K.J., Fabiszewska A.U., Wróbel B.: Występowanie aflatoksyn w paszach i metody ich dekontaminacji. *J. Res. Appl. Agr. Eng.*, 2014, 58 (4), 254-260.

NATURAL SUBSTANCES OF PLANT ORIGIN ADEVERSELY AFFECTING HEALTH OF COWS AND MILK QUALITY

S u m m a r y

The objective of the research study was to discuss risks to animal health caused by natural harmful substances, i.e. phytotoxins and mycotoxins derived from feed in view of their adverse impact on milk quality and, consequently, on human health. As the most harmful compounds derived from feed are commonly indicated alkaloids, glycosides, saponins, essential oils, and organic acids as well as toxins produced by mould. Less harmful are glucosinolates, coumarin and derivatives of furanocoumarin, lectins, and, also, phytoestrogens. Both the harmful compounds naturally occurring in fresh forage and in other bulky feeds and the mycotoxins are a potential threat to health and life of animals since they affect productivity of animals as well as the quality of raw materials including milk. The biggest threat to animal and human health is aflatoxin B₁ because of its proven carcinogenic and mutagenic effects. However, as it is indicated by RASFF reports, such risks rarely occur. It results from two facts: animals selectively take and consume feed, particularly the grazing animals; farmers take actions under the Good Agricultural Practices.

Key words: plant toxins, mycotoxins, feed, milk, RASFF 

MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI, ELWIRA KOMOŃ-JANCZARA,
AGNIESZKA GLIBOWSKA

SELEKCJA NOWO WYIZOLOWANYCH SZCZEPÓW *RHIZOPUS* *ORYZAE* DO WYDAJNEJ PRODUKCJI KWASU L(+) MLEKOWEGO

Streszczenie

Celem pracy była ocena zdolności nowo wyizolowanych szczepów z rodzaju *Rhizopus* do produkcji kwasu mlekowego. W przypadku 20 izolatów, spośród 40 przebadanych, w filtratach pohodowlanych stwierdzono znaczące stężenia kwasu mlekowego. Były to szczepy zaliczone do gatunku *Rhizopus oryzae*, podczas gdy pozostałe szczepy, w tym należące do gatunku *Rhizopus stolonifer*, tych uzdolnień nie przejawiały. Stężenia kwasu mlekowego w filtratach były zróżnicowane w zależności od użytego szczepu grzyba oraz rodzaju źródła węgla. Najwyższe stężenie kwasu mlekowego – 74,06 g/l oznaczono w filtracie pohodowlanym szczepu *Rhizopus oryzae* R-42, w podłożu zawierającym 100 g/l glukozy. Największą wydajność kwasu mlekowego wynoszącą 89,4 % oraz produktywność – blisko 0,5 g/l/h uzyskano również po hodowli szczepu *R. oryzae* R-42 na podłożu zawierającym 50 g/l glukozy. Nieznacznie niższe wartości stwierdzono, gdy jako źródło węgla użyto mannozy lub fruktozy. Zdecydowanie niższe wartości otrzymano natomiast, gdy źródłem węgla była ksyloza lub skrobia. Spośród badanych szczepów tylko 6 było zdolnych do wzrostu i produkcji kwasu mlekowego w podłożu z sacharozą. Najlepszy szczep *R. oryzae* R-83 charakteryzował się dużą wydajnością produkcji kwasu mlekowego wynoszącą blisko 90 % na podłożu z dodatkiem 50 g/l sacharozy. Wszystkie badane szczepy wytwarzały kwas L(+) mlekowy.

Słowa kluczowe: *Rhizopus oryzae*, kwas L(+) mlekowy, fermentacja, sacharydy

Wprowadzenie

Grzyby gatunku *Rhizopus oryzae* są zdolne do produkcji kwasu mlekowego i kwasu fumarowego [5]. Produktem ubocznym fermentacji jest etanol [8, 9]. Niekiedy kwasowi fumarowemu towarzyszy kwas mlekowy i odwrotnie. Dlatego poszukując

Dr inż. M. Pałys, Centralne Laboratorium Agroekologiczne, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. B. Dobrzańskiego 3, 20-262 Lublin, prof. dr hab. Z. Targoński, mgr inż. E. Komoń-Janczara, mgr inż. A. Glibowska, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: elwira.komon.janczara@up.lublin.pl

producentów kwasu mlekowego warto koncentrować się na tych szczepach, które nie wytwarzają ww. produktów ubocznych. Zainteresowanie kwasem mlekowym zwiększa się w związku ze wzrastającym zapotrzebowaniem na kwas polimlekowy jako biodegradowalne tworzywo sztuczne, a także na liczne jego zastosowania w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Światowa produkcja kwasu mlekowego wynosi obecnie ponad 150 tys. ton [3], a przewiduje się jej kilkukrotny wzrost do 2020 roku. Szczepy *Rhizopus oryzae* wytwarzają enancjomerycznie czysty kwas L(+) mlekowy, który jest preferowany w syntezie kwasu polimlekowego. Ponadto zaletą grzybowej produkcji kwasu mlekowego w porównaniu z bakteryjną fermentacją mlekową są małe wymagania pokarmowe i proste techniki oczyszczania kwasu mlekowego po fermentacji [2, 4].

Rhizopus oryzae wykorzystuje do produkcji kwasu mlekowego proste sacharydy, takie jak: glukoza, fruktoza, ksyloza i galaktoza, chociaż wydajność w przypadku tych dwóch ostatnich sacharydów nie jest duża [4]. Wybrane szczepy efektywnie fermentują disacharydy, takie jak sacharoza i maltoza, a także polisacharydy, takie jak skrobia [7, 11]. Jako źródło azotu najczęściej wykorzystywane są jony amonowe lub azotanowe [12], a węglan wapniowy stosuje się jako środek neutralizujący powstający kwas mlekowy [8]. Wydajność kwasu mlekowego z sacharydów nie przekracza 85 % przy produktywności nie większej niż 2 g/l/h. Proces fermentacji można prowadzić zarówno metodą wgłębną, jak i w podłożu stałym. W tym drugim przypadku dużo niższe są koszty związane z napowietrzaniem i mieszaniem podłoża hodowlanego.

Celem pracy było pozyskanie nowych, wydajnych szczepów grzybów *Rhizopus oryzae* wytwarzających kwas L(+) mlekowy oraz porównanie ich ze szczepami ze znanych kolekcji zagranicznych.

Materiał i metody badań

Mikroorganizmy

Szczepy grzybów *Rhizopus oryzae* pochodziły z następujących kolekcji drobnoustrojów: DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Collection – Brunshwik, Niemcy), NBRC (Biological Resource Center Culture Collection – Chiba, Japonia), Kolekcja Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie oraz Kolekcja Kultur Drobnoustrojów Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Badaniom poddano 40 szczepów z rodzaju *Rhizopus*.

Podłoża hodowlane i warunki hodowli wytrząsanej

Do hodowli grzybów *Rhizopus oryzae* stosowano podłoże o następującym składzie; 2 g KH_2PO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,3 g CaCl_2 , 1 g ekstraktu drożdżowego, 1 ml Tween 80, 50 lub 100 g sacharydu, 0,5 ml roztworu mikroelementów ($5 \text{ g/dm}^3 \text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$, $1,96 \text{ g/dm}^3 \text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, $1,66 \text{ g/dm}^3 \text{ZnSO}_4$), woda

destylowana uzupełniająca pożywkę do 1 l, pH podłoża ustalano roztworami 0,1 M NaOH oraz 1 M HCl na poziomie 5,5. Kolby Erlenmayera o pojemności 100 ml napełniano 50 ml pożywki, sterylizowano, a następnie szczepiono zawiesiną konidiów poszczególnych szczepów *Rhizopus*. Hodowle prowadzono na wytrząsarce rotacyjnej firmy Infors HT (Bottmingen, Szwajcaria) z zastosowaniem obrotów 200 rpm/min w temp. 32 °C. Po 24 h do podłoża wprowadzano 1 g węglanu wapnia celem neutralizacji powstającego kwasu mlekowego.

Oznaczanie stężenia kwasu mlekowego i sacharydów w filtracie pohodowlanym

Płyn pohodowlany zalewano 7-procentowym kwasem siarkowym(VI) celem wytrącenia jonów wapniowych i usunięcia węglanu wapnia. Próbkę ogrzewano do temp. 100 °C przez 10 min, a następnie chłodzono i dodawano acetonitryl w stosunku objętościowym 1 : 1. Zawiesinę wirowano przy 12000 x g przez 15 min, a następnie poddawano analizie HPLC. Oznaczanie stężenia sacharydów i kwasu mlekowego wykonywano przy użyciu chromatografu cieczowego firmy Gilson z detektorem UV-Vis oraz detektorem refraktometrycznym firmy Knauer (Berlin, Niemcy) do oznaczania stężenia sacharydów. Rozdział związków prowadzono przy użyciu kolumny Aminex HPX-87H, stosując jako eluent 30 mM roztwór kwasu siarkowego. Detekcję kwasów prowadzono przy długości fali $\lambda = 210$ nm.

Określenie izomerów optycznych: kwasu D(-) i L(+) mlekowego

Określenie form izomerycznych kwasu mlekowego prowadzono według procedury dołączonej do testu enzymatycznego firmy R-Biopharm (Darmstadt, Niemcy) (kwas D-mlekowy/kwas L-mlekowy). Po zakończeniu 96-godzinnej hodowli wytrząsanej badanych szczepów rodzaju *Rhizopus oryzae* w podłożu z dodatkiem 50 g/l glukozy próbki wirowano jak wyżej i badano na zawartość form kwasu mlekowego: L(+) i D(-). Formy izomeryczne kwasu określano jakościowo i ilościowo testem firmy R-Biopharm do enzymatycznego oznaczania kwasu D- i L-mlekowego. Pomiar spektrofotometryczny przygotowanych prób przeprowadzano przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Unicam 5625 wyposażonego w lampę rtęciową (ATI Unicam, Boston, USA) przy długości fali $\lambda = 365$ nm.

Analiza statystyczna wyników

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 10.0 PL (StatSoft, Polska). Dla otrzymanych powtórzeń wyliczono średnią oraz odchylenia standardowe, a następnie wyznaczono przedziały ufności z zastosowaniem testu Tukeya. Do analiz przyjęto poziom istotności 0,05.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono pochodzenie szczepów oraz wyniki z tych hodowli, w których w filtratach pohodowlanych stwierdzono obecność znaczących (przekraczających 30 g/l) stężeń kwasu mlekowego.

Tabela 1. Wykaz szczepów *Rhizopus oryzae* wytwarzających kwas mlekowy w podłożu hodowlanym z dodatkiem glukozy w ilości 100 g/l

Table 1. List of *Rhizopus oryzae* strains producing lactic acid in a medium containing 100 g/l of glucose

Szczep Strain	Gatunek Species	Źródło pochodzenia Origin	Stężenie kwasu mlekowego The concentration of lactic acid [g/l] ($\bar{x} \pm s / SD$)
R-4	<i>Rhizopus oryzae</i>	DSM 2200	43,91 ^{BC} $\pm$ 3,56
R-16	<i>Rhizopus oryzae</i>	NBRC 4758	30,80 ^A $\pm$ 1,85
R-36	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	37,34 ^{AB} $\pm$ 1,81
R-41	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z gleby / isolated from soil	37,44 ^{AB} $\pm$ 1,80
R-42	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z gleby / isolated from soil	74,06 ^G $\pm$ 3,87
R-43	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z gleby / isolated from soil	70,44 ^G $\pm$ 1,58
R-50	<i>Rhizopus oryzae</i>	IBPRS, Warszawa / IAFB Warsaw	37,03 ^{AB} $\pm$ 3,67
R-52	<i>Rhizopus oryzae</i>	IBPRS, Warszawa / IAFB Warsaw	37,78 ^B $\pm$ 3,34
R-72	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z gleby (piaszczystej) isolated from soil (sandy)	54,02 ^{EF} $\pm$ 1,41
R-73	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z gleby (ziemi próchnicznej) isolated from soil (mould)	55,28 ^F $\pm$ 1,18
R-78	<i>Rhizopus oryzae</i>	DSM 854	51,60 ^{DEF} $\pm$ 2,06
R-79	<i>Rhizopus oryzae</i>	DSM 906	48,56 ^{CDEF} $\pm$ 2,60
R-82	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	52,83 ^{DEF} $\pm$ 3,20
R-83	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	68,75 ^G $\pm$ 1,22
R-84	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	48,54 ^{CDEF} $\pm$ 1,40
R-85	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	47,13 ^{CDE} $\pm$ 0,69
R-86	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	47,35 ^{CDE} $\pm$ 0,87
R-87	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	44,70 ^C $\pm$ 1,15
R-89	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	46,42 ^{CD} $\pm$ 0,78
R-90	<i>Rhizopus oryzae</i>	wyizolowany z nasion zbóż isolated from crop grains	47,45 ^{CDE} $\pm$ 1,88

Objasnienia / Explanatory notes:

DSMZ – German Collection of Microorganism and Cell Cultures; NBRC – Biological Resource Center Culture Collection; IBPRS – Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie / Institute of Agricultural and Food Biotechnology in Warsaw; Pozostałe szczepy były własnością Katedry

Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie / Other strains were owned by the Department of Biotechnology, Human Nutrition and Science of Food Commodities at the University of Life Sciences in Lublin; $\bar{x}$ – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; Wyniki oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / results denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p > 0.05$); $n = 3$.

Spośród badanych szczepów zdolność do wytwarzania znaczących ilości kwasu mlekowego wykazywały szczepy gatunku *Rhizopus oryzae*. Izolaty gatunku *Rhizopus stolonifer* (dane niepublikowane) nie wytwarzały natomiast kwasu mlekowego. Najwyższe stężenia kwasu mlekowego oznaczono w filtratach z izolatów *Rhizopus oryzae* oznaczonych jako R-42 i R-43 oraz nieznacznie niższe z izolatu oznaczonego jako R-83, natomiast znacznie niższe wartości stężenia kwasu mlekowego stwierdzono po hodowli szczepów *Rhizopus oryzae* z kolekcji zachodnich DSM 2200, DSM 854, DSM 906 oraz NBRC 4758. Stężenia kwasu mlekowego w filtratach były bardzo zróżnicowane po hodowli badanych szczepów, co wskazuje na celowość prac selekcyjnych, by pozyskać jak najlepszych producentów kwasu mlekowego. Wstępna selekcja szczepów prowadzona była w podłożu zawierającym glukozę w ilości 100 g/l.

Do kolejnych badań wybrano 16 szczepów, aby ocenić ich zdolność do wykorzystania różnych monosacharydów w produkcji kwasu mlekowego (tab. 2).

Najwyższe stężenia kwasu mlekowego otrzymano po hodowli szczepów *Rhizopus oryzae* oznaczonych jako R-42 i R-43, gdy źródłem węgla była glukoza, nieznacznie niższe wartości otrzymano w przypadku mannozy i fruktozy, a dużo niższe, gdy źródłem węgla była ksyloza. Dla innych szczepów te relacje były odmienne. W przypadku kilku szczepów stężenie kwasu mlekowego w filtratach pohodowlanych było dwukrotnie wyższe, gdy w podłożu zastosowano ksylozę jako źródło węgla, w stosunku do szczepów R-42 i R-43 namnożonych na tym samym źródle węgla. Vially i wsp. [10] badali produkcję kwasu mlekowego w obecności różnych źródeł węgla przy użyciu szczepu *Rhizopus oryzae* UMIP 4.77 i stwierdzili najwyższe stężenie kwasu mlekowego w filtratach po hodowli badanego szczepu z dodatkiem glukozy jako źródła węgla, dużo niższe w obecności ksylozy lub sacharozy, a brak kwasu mlekowego w filtratach po hodowli z udziałem glicerolu lub laktozy. Badacze ci uzyskali wyższą produktywność kwasu mlekowego niż w przypadku badanych w niniejszej pracy szczepów, ale należy zaznaczyć, że hodowle prowadzili w warunkach kontrolowanego pH w bioreaktorze, co sprzyjało większej produktywności tego kwasu.

Najwyższą produktywność kwasu mlekowego osiągnięto, gdy źródłem węgla była glukoza, niezależnie od użytego szczepu *Rhizopus oryzae* (tab. 3).

Tabela 2. Stężenie kwasu mlekowego uzyskane po 96-godzinnej hodowli wybranych szczepów *Rhizopus oryzae* w podłożu hodowlanym z dodatkiem monosacharydów w ilości 50 g/lTable 2. Concentration of lactic acid obtained after 96 h cultivation of selected *Rhizopus oryzae* strains in medium containing 50 g/l of monosaccharide

Szczep Strain	Średnie stężenie kwasu mlekowego Average concentration of lactic acid [g/l]				
	Monosacharyd / Monosaccharide				
	Fruktoza Fructose	Galaktoza Galactose	Glukoza Glucose	Ksyloza Xylose	Mannoza Mannose
	$\bar{x} \pm s / SD$				
R-4	29,74 ^{CD} ± 1,15	12,89 ^b ± 1,22	38,85 ^{C'D'E'F'} ± 0,96	2,11 ^{b'} ± 0,38	7,69 ^{A''} ± 0,76
R-16	32,35 ^{DE} ± 1,32	0,00 ^a ± 0,00	36,45 ^{B'C'D'} ± 1,63	0,00 ^{a'} ± 0,00	12,56 ^{B''} ± 1,02
R-42	35,55 ^{EFG} ± 1,47	22,01 ^{cd} ± 0,95	44,69 ^{G'} ± 1,12	10,71 ^{d'e'f'} ± 0,44	36,68 ^{E'} ± 1,39
R-43	36,33 ^{FGH} ± 1,19	22,88 ^d ± 0,47	43,07 ^{F'G'} ± 1,58	11,07 ^{e'f'} ± 0,38	41,04 ^{F''} ± 1,00
R-72	36,52 ^{FGH} ± 0,88	21,31 ^{cd} ± 0,52	37,82 ^{C'D'E'} ± 0,35	10,57 ^{d'e'} ± 0,37	30,84 ^{C''D''} ± 0,72
R-73	34,15 ^{EF} ± 0,41	19,46 ^c ± 0,37	37,70 ^{C'D'E'} ± 0,72	7,66 ^{e'} ± 0,27	30,48 ^{C''D''} ± 0,42
R-78	39,16 ^H ± 1,00	23,04 ^{de} ± 0,86	43,79 ^{F'G'} ± 1,40	9,13 ^{c'd'} ± 0,45	30,77 ^{C''D''} ± 0,83
R-79	38,05 ^{GH} ± 0,89	21,23 ^{cd} ± 0,44	41,93 ^{E'F'G'} ± 1,40	8,62 ^{e'} ± 0,38	28,90 ^{C''} ± 0,66
R-82	24,39 ^{AB} ± 0,72	31,70 ⁱ ± 1,02	34,30 ^{A'B'C'} ± 1,63	12,55 ^{f'} ± 0,54	29,00 ^{C''} ± 0,86
R-83	27,01 ^{BC} ± 0,61	29,85 ^{hi} ± 0,74	41,25 ^{D'E'F'G'} ± 1,64	22,04 ^{i'} ± 0,55	28,42 ^{C''} ± 0,75
R-84	25,17 ^{AB} ± 0,68	28,88 ^{ghi} ± 0,76	36,77 ^{B'C'D'} ± 1,27	20,42 ^{h'i'} ± 0,66	31,75 ^{C''D''} ± 0,81
R-85	24,48 ^{AB} ± 0,89	26,95 ^{fgh} ± 0,96	35,00 ^{A'B'C'} ± 1,13	21,10 ^{i'} ± 0,75	30,24 ^{C''D''} ± 1,02
R-86	21,69 ^A ± 0,59	25,87 ^{ef} ± 0,69	36,97 ^{B'C'D'E'} ± 1,09	20,27 ^{g'h'i'} ± 0,55	33,49 ^{D''E''} ± 0,79
R-87	25,21 ^{AB} ± 0,57	26,53 ^{fg} ± 0,64	31,17 ^{A'} ± 1,12	18,80 ^{g'h'} ± 0,54	30,08 ^{C''D''} ± 0,66
R-89	23,47 ^{AB} ± 0,68	24,05 ^{def} ± 0,68	34,57 ^{A'B'C'} ± 1,22	20,98 ^{i'} ± 0,52	30,74 ^{C''D''} ± 0,93
R-90	24,09 ^{AB} ± 0,55	22,65 ^d ± 0,54	32,28 ^{A'B'} ± 1,16	18,44 ^{g'} ± 0,38	33,03 ^{D''} ± 0,66

Objaśnienia / Explanatory notes:

Analizy statystyczne wykonano oddzielnie dla każdego monosacharydu / Statistical analyses were performed separately for each monosaccharide; Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Produktywność kwasu mlekowego na poziomie bliskim 0,5 g/l/h należy uznać na tym etapie badań za korzystną. Najmniejszą produktywnością charakteryzowały się natomiast szczepki hodowane w podłożu z ksylozą. Zaobserwowano duże zróżnicowanie produktywności badanych szczepów. W podłożach z pozostałymi monosacharydami produktywność można jednak uznać za zadowalającą.

Tabela 3. Produktywność kwasu mlekowego uzyskana po 96-godzinnej hodowli wybranych szczepów *Rhizopus oryzae* w podłożu hodowlanym z dodatkiem monosacharydów w ilości 50 g/lTable 3. Lactic acid productivity after 96 h cultivation of selected *Rhizopus oryzae* strains obtained in medium containing 50 g/l of monosaccharide

Szczep Strain	Produktywność kwasu mlekowego Lactic acid productivity [g/l/h]				
	Monosacharyd / Monosaccharide				
	Fruktoza Fructose	Galaktoza Galactose	Glukoza Glucose	Ksyloza Xylose	Mannoza Mannose
	$\bar{x} \pm s / SD$				
R-4	0,31 ^{CD} ± 0,01	0,13 ^b ± 0,01	0,40 ^{C'D'E'F'} ± 0,01	0,02 ^{b'} ± 0,00	0,08 ^{A''} ± 0,01
R-16	0,34 ^{DE} ± 0,01	0,00 ^a ± 0,00	0,38 ^{B'C'D'} ± 0,02	0,00 ^{a'} ± 0,00	0,13 ^{B''} ± 0,01
R-42	0,37 ^{EFG} ± 0,02	0,23 ^{cd} ± 0,01	0,47 ^{G'} ± 0,01	0,11 ^{d'e'f'} ± 0,00	0,38 ^{E''} ± 0,01
R-43	0,38 ^{FGH} ± 0,01	0,24 ^d ± 0,00	0,45 ^{F'G'} ± 0,02	0,12 ^{e'f'} ± 0,00	0,43 ^{F''} ± 0,01
R-72	0,38 ^{FGH} ± 0,01	0,22 ^{cd} ± 0,01	0,39 ^{C'D'E'} ± 0,00	0,11 ^{d'e'} ± 0,00	0,32 ^{C''D''} ± 0,01
R-73	0,36 ^{EF} ± 0,00	0,20 ^c ± 0,00	0,39 ^{C'D'E'} ± 0,01	0,08 ^{c'} ± 0,00	0,32 ^{C''D''} ± 0,00
R-78	0,41 ^H ± 0,01	0,24 ^{de} ± 0,01	0,46 ^{F'G'} ± 0,01	0,10 ^{c'd'} ± 0,00	0,32 ^{C''D''} ± 0,01
R-79	0,40 ^{GH} ± 0,01	0,22 ^{cd} ± 0,00	0,44 ^{E'F'G'} ± 0,01	0,09 ^{c'} ± 0,00	0,30 ^{C''} ± 0,01
R-82	0,25 ^{AB} ± 0,01	0,33 ⁱ ± 0,01	0,36 ^{A'B'C'} ± 0,02	0,13 ^{f'} ± 0,01	0,30 ^{C''} ± 0,01
R-83	0,28 ^{BC} ± 0,01	0,31 ^{hi} ± 0,01	0,43 ^{D'E'F'G'} ± 0,02	0,23 ^{i'} ± 0,01	0,30 ^{C''} ± 0,01
R-84	0,26 ^{AB} ± 0,01	0,30 ^{ghi} ± 0,01	0,38 ^{B'C'D'} ± 0,01	0,21 ^{h'i'} ± 0,01	0,33 ^{C''D''} ± 0,01
R-85	0,26 ^{AB} ± 0,01	0,28 ^{gh} ± 0,01	0,36 ^{A'B'C'} ± 0,01	0,22 ^{i'} ± 0,01	0,32 ^{C''D''} ± 0,01
R-86	0,23 ^A ± 0,01	0,27 ^{ef} ± 0,01	0,39 ^{B'C'D'E'} ± 0,01	0,21 ^{g'h'i'} ± 0,01	0,35 ^{D''E''} ± 0,01
R-87	0,26 ^{AB} ± 0,01	0,28 ^{fg} ± 0,01	0,32 ^{A'} ± 0,01	0,20 ^{g'h'} ± 0,01	0,31 ^{C''D''} ± 0,01
R-89	0,24 ^{AB} ± 0,01	0,25 ^{def} ± 0,01	0,36 ^{A'B'C'} ± 0,01	0,22 ^{i'} ± 0,01	0,32 ^{C''D''} ± 0,01
R-90	0,25 ^{AB} ± 0,01	0,24 ^d ± 0,01	0,34 ^{A'B'} ± 0,01	0,19 ^{g'} ± 0,00	0,34 ^{D''} ± 0,01

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Ze względów aplikacyjnych ważnymi źródłami węgla są sacharoza i skrobia, które należą do podstawowych źródeł węgla i energii w procesach biotechnologicznych, a jednocześnie mają istotny wpływ na cenę produktu końcowego. W tab. 4. przedstawiono wyniki stężeń kwasu mlekowego w filtratach po hodowlach badanych szczepów *Rhizopus oryzae* w podłożu z sacharozą lub skrobią. Spośród 16 szczepów w podłożu z sacharozą tylko 6 wytwarzało kwas mlekowy, a najwyższe stężenia kwasu stwierdzono w filtratach po hodowli szczepów oznaczonych jako R-83 i R-84. Zadowalająca była także produktywność tych szczepów, nawet nieznacznie większa niż po hodowli w podłożach z glukozą (tab. 3). Szczepy, które wyróżniały się dużą produkcją kwasu mlekowego w podłożu z glukozą, a które były opisane wcześniej, tj. R-42 i R-43, nie były natomiast zdolne do produkcji kwasu mlekowego w podłożu z dodatkiem sacharozy. Watanabe i Oda [11] przebadali 26 szczepów *Rhizopus oryzae* z kolekcji NBRC i stwierdzili, że tylko 2 z nich wytwarzały kwas mlekowy w podłożu z sacharozą,

w tym szczep *R. oryzae* NBRC 4785. W niniejszej pracy także stwierdzono, że ten szczep wytwarza kwas mlekowy w podłożu z sacharozą, jednak zarówno stężenie kwasu, jak i wydajność po 4-dobowej hodowli były wielokrotnie mniejsze niż w przypadku szczepu *R. oryzae* R-83 z kolekcji Katedry. Ponadto warto zwrócić uwagę, że wielokrotnie omawiany w publikacjach szczep *Rhizopus oryzae* NRRL 395 zdaniem Bulut i wsp. [1] był zdolny do produkcji kwasu mlekowego z sacharozy, ale ze stosunkowo małą wydajnością wynoszącą 0,42 g/g, gdy stężenie sacharozy w podłożu wynosiło 50 g/l. Dlatego podejmowanie prac nad selekcją szczepów efektywnie metabolizujących czystą sacharozę, jak również melasę do kwasu mlekowego jest w pełni uzasadnione. Guo i wsp. [3] wyselekcjonowali szczep *Rhizopus oryzae* GY18, który pozwalał uzyskać w filtracie pohodowlanym ilość kwasu mlekowego równą 97,5 g/l, gdy w podłożu było 120 g sacharozy.

Tabela 4. Stężenia i produktywności kwasu mlekowego uzyskane po 96-godzinnej hodowli wybranych szczepów *Rhizopus oryzae* w podłożu z dodatkiem sacharydów w ilości 50 g/l

Table 4. Lactic acid concentrations and productivity after 96 h cultivation of selected *Rhizopus oryzae* strains obtained in medium containing 50 g/l of monosaccharide

Szczep Strain	Sacharyd / Saccharide			
	Sacharoza / Sucrose		Skrobia / Starch	
	Stężenie kwasu mlekowego Lactic acid con- centration [g/l]	Produktywność kwasu mlekowego Lactic acid produc- tivity [g/l/h]	Stężenie kwasu mlekowego Lactic acid con- centration [g/l]	Produktywność kwasu mlekowego Lactic acid produc- tivity [g/l/h]
	$\bar{x} \pm s / SD$			
R-4	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	3,79 ^a ± 0,47	0,04 ^a ± 0,00
R-16	0,86 ^A ± 0,16	0,01 ^A ± 0,00	8,83 ^b ± 0,66	0,09 ^b ± 0,01
R-42	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	19,88 ^{cd} ± 0,69	0,21 ^{cd} ± 0,01
R-43	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	18,49 ^c ± 0,54	0,19 ^c ± 0,01
R-72	28,40 ^B ± 0,40	0,30 ^B ± 0,00	8,22 ^b ± 0,38	0,09 ^b ± 0,00
R-73	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	8,63 ^b ± 0,28	0,09 ^b ± 0,00
R-78	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	9,21 ^b ± 0,44	0,10 ^b ± 0,00
R-79	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	7,73 ^b ± 0,31	0,08 ^b ± 0,00
R-82	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	22,96 ^{ef} ± 0,65	0,24 ^{ef} ± 0,01
R-83	44,95 ^E ± 0,56	0,47 ^E ± 0,01	25,44 ^{fg} ± 0,68	0,27 ^{fg} ± 0,01
R-84	41,79 ^D ± 1,15	0,44 ^D ± 0,01	26,81 ^{gh} ± 0,74	0,28 ^{gh} ± 0,01
R-85	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	28,25 ^h ± 0,91	0,29 ^h ± 0,01
R-86	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	27,27 ^{gh} ± 0,61	0,28 ^{gh} ± 0,01
R-87	38,28 ^C ± 1,02	0,40 ^C ± 0,01	22,20 ^{de} ± 0,61	0,23 ^{de} ± 0,01
R-89	38,70 ^C ± 0,93	0,40 ^C ± 0,01	33,67 ⁱ ± 1,05	0,35 ⁱ ± 0,01
R-90	0,00 ^A ± 0,00	0,00 ^A ± 0,00	18,44 ^c ± 0,61	0,19 ^c ± 0,00

Objaśnienia / Explanatory notes:

Analizy statystyczne wykonano oddzielnie dla sacharozy i skrobi / Statistical analyses were performed separately for sucrose and starch; Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 5. Stężenia kwasu mlekowego formy L-(+) i D-(-) uzyskane po hodowli szczepów *Rhizopus oryzae* w podłożu z dodatkiem glukozy w ilości 50 g/lTable 5. Concentrations of lactic acid of L(+) and D(-) form obtained after cultivation of *Rhizopus oryzae* strains in medium containing 50 g/l of glucose

Szczep Strain	Stężenie kwasu mlekowego formy L(+) Lactic acid L(+) form concentration [g/l]	Stężenie kwasu mlekowego formy D(-) Lactic acid D(-) form concentration [g/l]	Stężenie kwasu mlekowego ogółem Summary of lactic acid concentration [g/l]
	$\bar{x} \pm s / SD$		
R-4	36,84 ^{BCDE} $\pm 0,75$	0,0002 ^{ab} $\pm 0,00001$	36,84 ^{B⁺CDE} $\pm 0,57$
R-16	35,09 ^{BCD} $\pm 0,42$	0,0036 ^{de} $\pm 0,004$	35,09 ^{BCD} $\pm 0,85$
R-42	43,58 ^F $\pm 1,06$	0,00 ^a $\pm 0,00$	43,58 ^F $\pm 1,67$
R-43	41,94 ^{EF} $\pm 0,98$	0,00 ^a $\pm 0,00$	41,94 ^{EF} $\pm 1,05$
R-72	34,12 ^{ABC} $\pm 0,24$	0,0013 ^c $\pm 0,0001$	34,13 ^{ABC} $\pm 0,79$
R-73	35,60 ^{ABC} $\pm 0,74$	0,0039 ^e $\pm 0,006$	35,60 ^{BCD} $\pm 1,45$
R-78	43,25 ^F $\pm 0,83$	0,00 ^a $\pm 0,00$	43,25 ^F $\pm 0,73$
R-79	40,06 ^{DEF} $\pm 0,53$	0,0014 ^c $\pm 0,0003$	40,07 ^{DEF} $\pm 0,66$
R-82	35,01 ^{ABCD} $\pm 0,12$	0,0006 ^b $\pm 0,0001$	35,01 ^{ABCD} $\pm 0,94$
R-83	39,53 ^{CDEF} $\pm 0,60$	0,0006 ^b $\pm 0,0001$	39,54 ^{CDEF} $\pm 1,12$
R-84	37,21 ^{BCDE} $\pm 0,71$	0,00 ^a $\pm 0,00$	37,21 ^{BCDE} $\pm 0,33$
R-85	35,99 ^{BCD} $\pm 0,86$	0,00 ^a $\pm 0,00$	35,99 ^{BCD} $\pm 0,47$
R-86	33,61 ^{AB} $\pm 0,36$	0,0032 ^d $\pm 0,0002$	33,62 ^{AB} $\pm 0,55$
R-87	32,01 ^{AB} $\pm 1,16$	0,00 ^a $\pm 0,00$	32,01 ^{AB} $\pm 1,19$
R-89	35,34 ^{BCD} $\pm 1,26$	0,0004 ^{ab} $\pm 0,0001$	35,34 ^{BCD} $\pm 0,46$
R-90	29,37 ^A $\pm 0,93$	0,00 ^a $\pm 0,00$	29,37 ^A $\pm 1,45$

Objaśnienia / Explanatory notes:

Analizy statystyczne wykonano oddzielnie dla formy L(+), D(-) i ogólnego stężenia kwasu mlekowego / Statistical analyses were performed separately for L(+) and D(-) forms and for total concentrations of lactic acid; Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Wszystkie szczepy testowane w ramach niniejszej pracy były zdolne do produkcji kwasu mlekowego w podłożu ze skrobią, jednak oznaczone stężenia kwasu mlekowego w filtratach pohodowlanych były znacznie niższe niż po hodowlach na podłożach z glukozą czy mannozą. Również wartości produktywności kwasu mlekowego uzyskane przez badane szczepy *Rhizopus oryzae* w podłożu ze skrobią były znacznie mniejsze niż w przypadku użycia jako źródła węgla pozostałych monosacharydów (z wyjątkiem ksylozy). Zhan i wsp. [12] uzyskali większą wydajności procesu produkcji kwasu mlekowego, dochodzącą do 90 %, gdy w podłożu jako źródła węgla użyto skrobi, ale wartości te otrzymano po wstępnej optymalizacji warunków hodowli, w szczególności po dodatku optymalnego stężenia azotu. We wstępnych badaniach własnych najlepszy

szczep R-89 wytwarzał kwas mlekowy z wydajnością ok. 70 % ze skrobi jako źródła węgla, co należy uznać za wynik satysfakcjonujący na tym etapie badań.

Wszystkie badane szczepy zamieszczone w tab. 5. wytwarzały formę L(+) kwasu mlekowego z blisko 100-procentową czystością, co jest bardzo istotne w dalszym wykorzystaniu kwasu zarówno jako dodatku do żywności, w farmacji, a także w produkcji tworzyw sztucznych.

Wnioski

1. W wyniku selekcji szczepów z rodzaju *Rhizopus* uzyskano 2 szczepy *Rhizopus oryzae* R-42 i R-43, które wytwarzały kwas L (+) mlekowy z wydajnością ponad 80-procentową z glukozy i z nieznacznie mniejszą wydajnością, gdy źródłem węgla była mannoza, fruktoza i galaktoza.
2. Wyselekcjonowane szczepy były zdolne do bezpośredniej konwersji skrobi do kwasu mlekowego, przy czym wydajność była uzależniona od szczepu użytego do fermentacji.
3. Tylko 5 szczepów było zdolnych do wzrostu i produkcji kwasu mlekowego w podłożu z sacharozą. Największą wydajność procesu produkcji kwasu mlekowego wynoszącą 0,82 g/g uzyskano podczas fermentacji sacharozy przez szczep *Rhizopus oryzae* R-83.
4. Dalsze prace, w tym optymalizacja hodowli w bioreaktorach, powinny przyczynić się w pierwszym rzędzie do zwiększenia wydajności procesu produkcji kwasu mlekowego, która już na wstępnym etapie badań jest obiecująca.
5. Badane szczepy w blisko 100 % wytwarzały kwas L(+) mlekowy, co jest ważne w jego późniejszych aplikacjach.

Literatura

- [1] Bulut S., Elibol M., Ozer D.: Effect of different carbon sources on L(+) lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochem. Bioeng. J.*, 2004, 21, 33-37.
- [2] Ghaffar T., Irshad M., Anwar Z., Aqil T., Zulfikar Z., Rig A., Kamran M., Ehsan N.: Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, 2014, 7, 222-229.
- [3] Guo Y., Yan Q., Jiang Zh., Teng Ch., Wang X.: Efficient production of lactic acid from sucrose and corn cob hydrolyzates by a newly *Rhizopus oryzae* GY18. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, 37, 1137-1143.
- [4] John R.P., Anisha G.S., Nampoothiri K.M., Pandey A.: Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. *Biotechnol. Adv.*, 2009, 27, 145-152.
- [5] Meussen B.J., de Graaff L.H., Sanders J.P.M., Weusthuis R.A.: Metabolic engineering of *Rhizopus oryzae* for production of platform chemicals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 94, 875-886.
- [6] Oda Y., Saito K., Yamauchi H., Mori M.: Lactic acid fermentation of potato pulp by the fungus *Rhizopus oryzae*. *Current Microbiol.*, 2002, 45, 1-4.
- [7] Pałys M., Targoński Z.: Produkcja kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 4 (89), 21-36.

- [8] Soccol C.R., Stonoga V.I., Raimbault M.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus* species. World J. Microbiol. Biotechnol., 1994, 10, 433-435.
- [9] Thitiprasert S., Songserm P., Boonkong W., Sooksai S., Kodama K., Thongchul N.: Manipulating pyruvate decarboxylase by addition of enzyme regulations during fermentation of *Rhizopus oryzae* to enhance lactic acid production. Appl. Biochem. Biotechnol., 2014, 174, 1795-1809.
- [10] Vially G., Marchal R., Guilbert N.: L(+) Lactate production from carbohydrates and lignocellulosic materials by *Rhizopus oryzae* UMIP 4.77. World J. Microbiol. Biotechnol., 2010, 26, 607-614.
- [11] Watanabe T., Oda Y.: Comparison of sucrose-hydrolyzing enzyme produced by *Rhizopus oryzae* and *Amylomyces rouxii*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2008, 72 (12), 3167-3173.
- [12] Zhan Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of lactic acid and byproducts from waste potato starch by *Rhizopus arrhizus*: Role of nitrogen sources. World J. Microbiol. Biotechnol., 2007, 23, 229-236.

SELECTING NEWLY ISOLATED *RHIZOPUS ORYZAE* STRAINS FOR EFFICIENT PRODUCTION OF L(+) LACTIC ACID

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the ability of newly isolated *Rhizopus oryzae* strains to produce L (+) lactic acid. 40 isolates were tested and a significant lactic acid concentration was found in the post-culture filtrates of 20 isolates. Those strains were assigned to the *Rhizopus oryzae* species, whereas the rest of the strains, including species belonging to the *Rhizopus stolonifer* species, did not show these abilities. The lactic acid concentration levels in the filtrates varied depending on the used strain of the fungus and the type of carbon source. The highest lactic acid concentration, 74.06 g/L, was determined in a post-culture filtrate of R-42 *Rhizopus oryzae* strain, in a medium containing 100 g/L of glucose. The highest yield of lactic acid, 89.4 %, and a productivity close to 0.5 g/Lxh were also obtained after cultivation of R-42 *R. oryzae* strain in a medium containing 50 g/L of glucose. Slightly lower values were reported when mannose or fructose were used as a carbon source. Yet, significantly lower values were obtained when the carbon source was a xylose or a starch. Of all the strains tested only 5 were able to grow and produce lactic acid in a medium with sucrose. The best R-83 *R. oryzae* strain was characterized by a high yield production of lactic acid amounting to nearly 90 % in a medium supplemented with 50 g/L of sucrose. All the tested strains produced L(+) lactic acid.

Key words: *Rhizopus oryzae*, L(+) lactic acid, fermentation, saccharides ☒

AGATA FABISZEWSKA, AGNIESZKA PIELIŃSKA, PATRYCJA MAZURCZAK,
BARTŁOMIEJ ZIENIUK, MAŁGORZATA WOŁOSZYNOWSKA

**WPLYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW NA WYDAJNOŚĆ
EKSTRAKЦИИ I SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH OLEJU
MIKROBIOLOGICZNEGO OTRZYMYWANEGO Z KOMÓREK
DROŻDŻY *YARROWIA LIPOLYTICA***

Streszczenie

Drożdże *Yarrowia lipolytica* to modelowy gatunek mikroorganizmów olejogennych, zdolny do kumulacji lipidów wewnątrz komórki w ilości powyżej 20 % suchej masy. Oprócz prac nad zwiększaniem wydajności biosyntezy oleju mikrobiologicznego ważnym zagadnieniem jest także dobór warunków ekstrakcji tłuszczu z biomasy drożdży. Celem pracy była ocena wpływu wybranych parametrów (rodzaju rozpuszczalnika, sposobu przygotowania próbki oraz czasu trwania procesu) na wydajność ekstrakcji tłuszczu zawartego w komórkach dzikiego szczepu drożdży *Y. lipolytica* KKP 379, prowadzonej w aparacie Soxhleta oraz na skład kwasów tłuszczowych w uzyskanym oleju. Hodowle okresowe drożdży prowadzono w bioreaktorze laboratoryjnym w bogatym podłożu YPO oraz w podłożach mineralnych z limitowaną zawartością azotu, co umożliwiło otrzymanie biomasy komórkowej o zróżnicowanej zawartości oleju mikrobiologicznego. W badaniach zastosowano plany kwadratów łacińskich, co pozwoliło na odmaskowanie efektu wpływu sposobu przygotowania próbki na zmienną zależną, jaką była zawartość tłuszczu w biomase drożdży. Najlepsze rezultaty osiągnięto po przygotowaniu biomasy metodą lityczną z wykorzystaniem komercyjnego preparatu Y-PER. Zastosowany czas ekstrakcji oraz rodzaj rozpuszczalnika (eter naftowy lub heksan) nie wpłynęły istotnie na wydajność procesu. Rodzaj rozpuszczalnika miał z kolei wpływ na zawartość trzech kwasów tłuszczowych spośród czternastu zidentyfikowanych w lipidach ekstrahowanych z biomasy drożdży, tj. kwasu palmitooleinowego, eikozapentaenowego i dokozateatraenowego. Większą zawartość wymienionych kwasów oznaczono w próbkach ekstrahowanych heksanem.

Słowa kluczowe: *Yarrowia lipolytica*, drożdże olejogenne, ekstrakcja ciągła, olej mikrobiologiczny, plany kwadratów łacińskich, kwasy tłuszczowe

Dr inż. A. Fabiszewska, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, inż. A. Pielńska, inż. P. Mazurczak, inż. B. Zieniuk, Wydz. Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa, mgr inż. M. Wołoszynowska, Zakład Analityczny, Instytut Przemysłu Organicznego, ul. Annopol 6, 03-236 Warszawa.
Kontakt: agata_fabiszewska@sggw.pl

Wprowadzenie

Ważnymi i często suplementowanymi składnikami żywności są wielonienasycone kwasy tłuszczowe pozyskiwane z materiału roślinnego lub zwierzęcego. Alternatywnym źródłem tych związków, choć nadal rzadko wykorzystywanym, są mikroorganizmy olejogenne. Olej mikrobiologiczny – ang. *single cell oil* (SCO), syntetyzowany wewnątrzkomórkowo przez mikroorganizmy ma skład zbliżony do wysokiej jakości olejów roślinnych, a hodowla mikroorganizmów jest szybka, niezależna od klimatu i wymaga mniejszego nakładu pracy w porównaniu z uprawą roślin czy chowem zwierząt [1, 9]. Do mikroorganizmów olejogennych zdolnych do kumulacji substancji lipidowych w ilości powyżej 20 % suchej biomasy komórki zaliczane są głównie grzyby (strzępkowe i drożdże) oraz kilka gatunków alg i bakterii [14]. Zdolność gromadzenia lipidów w komórkach drożdży z gatunku *Yarrowia lipolytica*, ich niepatogenność oraz dokładnie poznany genom sprawiły, że stały się one organizmem modelowym grupy drożdży olejogennych [2, 6, 8].

Istotnym zagadnieniem produkcji oleju mikrobiologicznego jest dobór metod i warunków jego ekstrakcji z wnętrza komórek, które mogą decydować o końcowej jakości i właściwościach oleju. Ekstrakcję tłuszczów z komórek organizmów żywych przeprowadza się najczęściej metodą Folcha, stosując ekstrakcję prostą mieszaniną rozpuszczalników, takich jak chloroform i metanol. Powszechną metodą ekstrakcji ciągłej z próbek stałych – uznaną za standardową przez AOAC (ang. *Association of Official Agricultural Chemists*) – jest ługowanie w aparacie Soxhleta. Możliwe są również modyfikacje tej metody z wykorzystaniem mikrofal lub ultradźwięków. Innymi metodami wydzielania lipidów są ekstrakcja nadkrytyczna czy ekstrakcja rozpuszczalnikiem pod zwiększonym ciśnieniem [15], przy czym obecnie są one zbyt kosztowne do zastosowania w skali przemysłowej [1].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu wybranych czynników (rodzaju rozpuszczalnika, sposobu przygotowania próbki oraz czasu trwania procesu) na wydajność ekstrakcji oleju mikrobiologicznego syntezowanego w komórkach drożdży *Y. lipolytica*, prowadzonej w aparacie Soxhleta oraz na skład kwasów tłuszczowych w tak uzyskanym oleju.

Materiał i metody badań

Materiał biologiczny stanowił dziki szczep drożdży *Y. lipolytica* KKP 379 pochodzący z Kolekcji Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. W. Dąbrowskiego w Warszawie. Szczep drożdży przechowywano na podłożu agarowym YPG zawierającym glukozę – 20 g/dm³, pepton – 20 g/dm³, ekstrakt drożdżowy – 10 g/dm³ oraz agar – 20 g/dm³. Hodowle drożdży prowadzono w podłożach płynnych bez dodatku agaru: YPO

(w którym glukozę zastąpiono oliwą z oliwek w ilości 20 g/dm³), YPR (glukozę zastąpiono olejem odpadowym po procesie wędzenia ryb z rodziny łososiowatych i makrełowatych w ilości 20 g/dm³), YPOR (po 10 g/dm³ oliwy z oliwek i oleju odpadowego) oraz MO5 opracowanym na podstawie danych, które opublikowali Bialy i wsp. [3] oraz Papanikolaou i Aggelis [10] (oliwa z oliwek – 50 g/dm³, Tween 80 – 1 g/dm³, pepton – 1 g/dm³, ekstrakt drożdżowy – 2 g/dm³, (NH₄)₂SO₄ – 2,5 g/dm³, KH₂PO₄ – 7 g/dm³, Na₂HPO₄ – 2,5 g/dm³, MgSO₄ – 1,5 g/dm³, CaCl₂ – 0,15 g/dm³, FeSO₄ × H₂O – 0,16 g/dm³, ZnSO₄ – 0,02 g/dm³, MnCl₂ × 4H₂O – 0,08 g/dm³). Początkowe pH podłoży ustalano na poziomie 5,0. Hodowle okresowe prowadzono w bioreaktorze laboratoryjnym BIOFLO 3000 (New Brunswick Scientific Edison, USA) o pojemności roboczej 4 dm³ w temp. 28 °C przy obrotach mieszadła promieniowego z sześcioma łopatkami na poziomie 350 rpm oraz natlenieniu sprężonym powietrzem. Objętość stosowanego inokulum wynosiła 0,0375 % (v/v). Fazy wzrostu drożdży oceniano na podstawie stopnia zużycia tlenu rozpuszczonego w podłożu za pomocą elektrody tlenowej. Wartość powyżej 50 % natlenienia oznaczała wejście komórek w fazę stacjonarną. Hodowle prowadzono do momentu osiągnięcia przez komórki fazy stacjonarnej.

Próbki mokrej biomasy (30 ÷ 40 g) przygotowywano czterema metodami: mechaniczną (próbki biomasy drożdży ucierano w młynku z piaskiem), dezintegracji z wykorzystaniem detergentów (dodawano 15 cm³ handlowego preparatu litycznego Y-PER, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), chemiczną (dodawano 30 cm³ acetonu i mieszano przez 30 min), skojarzoną (łączyła metodę mechaniczną z chemiczną). Przygotowaną biomasę suszono do zawartości wody < 0,5 %. Ekstrakcję oleju mikrobiologicznego wykonywano metodą ługowania w aparacie Soxhleta. W doświadczeniach stosowano dwa rozpuszczalniki: eter naftowy lub heksan. Czas ekstrakcji mierzono liczbą przelewów. Średni czas przelewu wynosił 8 ÷ 9 min. Ekstrakt (olej mikrobiologiczny) oddzielano od rozpuszczalnika metodą destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem (360 mbar) w wyparce próżniowej BÜCHI Rotavapor R-200 (Szwajcaria). Zawartość wyekstrahowanych lipidów z komórek obliczano na podstawie masy oleju w odniesieniu do naważki suchej biomasy drożdży.

Przeprowadzono dwa doświadczenia z uwzględnieniem statystycznego planowania doświadczeń z wykorzystaniem planu kwadratów łacińskich 4 × 4 oraz 2 × 2 (tab. 1 i 2). W pierwszym doświadczeniu wykorzystano biomasę drożdży z hodowli w podłożu YPO, a w drugim – biomasę namnożoną w podłożu MO5 (o dużej zawartości oleju) oraz w podłożu YPR (o małej zawartości oleju).

Skład kwasów tłuszczowych w oleju mikrobiologicznym ekstrahowanym z biomasy drożdży hodowanej w podłożu YPOR oznaczano metodą chromatografii gazowej z zastosowaniem detektora płomieniowo-jonizacyjnego. Zhydrolizowane kwasy tłuszczowe w oleju poddawano derywatyзації do postaci estrów metylowych przy użyciu 1 M metanolanu sodu oraz 14-procentowego BF₃ w metanolu. Do analiz używano apa-

ratu firmy Varian CP3800 (USA) wyposażonego w kolumnę kapilarną ZB-FFAP o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm i grubości filmu fazy stacjonarnej 0,25 μm . Jako gaz nośny stosowano hel. Przepływ gazu nośnego wynosił 1,2 cm^3/min . Poszczególne kwasy tłuszczowe identyfikowano na podstawie czasów retencji, porównując je z kwasami wzorcowymi.

Tabela 1. Plan pierwszego doświadczenia – kwadrat łaciński 4×4 Table 1. First experiment design – Latin Square Design 4×4

Liczba przelewów Number of overflows	Rodzaj rozpuszczalnika / Type of solvent			
	Eter naftowy Petroleum ether	Eter naftowy Petroleum ether	Heksan Hexane	Heksan Hexane
6	Y-PER	Piasek Grit	Metoda skojarzona Associated method	Aceton Acetone
10	Metoda skojarzona Associated method	Aceton Acetone	Y-PER	Piasek Grit
14	Piasek Grit	Metoda skojarzona Associated method	Aceton Acetone	Y-PER
18	Aceton Acetone	Y-PER	Piasek Grit	Metoda skojarzona Associated method

Objaśnienia / Explanatory notes:

Czynnik badany – sposób przygotowania próbki / Factor being tested – sample treatment method.

Tabela 2. Plan drugiego doświadczenia – kwadrat łaciński 2×2 Table 2. Second experiment design – Latin Square Design 2×2

Sposób przygotowania próbki Sample treatment method	Zawartość tłuszczu w biomasie / Content of lipids in biomass	
	Biomasa o dużej zawartości tłuszczu / Biomass with high lipid content	Biomasa o małej zawartości tłuszczu / Biomass with low lipid content
Brak przygotowania No treatment	6	18
Y-PER lub metoda skojarzona Y-PER or associated method	18	6

Objaśnienia / Explanatory notes:

czynnik badany – liczba przelewów / Factor being tested – number of overflows.

Statystyczne opracowanie wyników przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Statistica 12.0 zestaw plus (Statsoft, Polska). Wyniki zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych analizowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji oraz przy zastosowaniu testu post-hoc Tukeya ($p = 0,05$). Założenie o normalności rozkładu sprawdzono testem Shapiro-Wilka, a założenie o jednorodności wariancji – testem Levena.

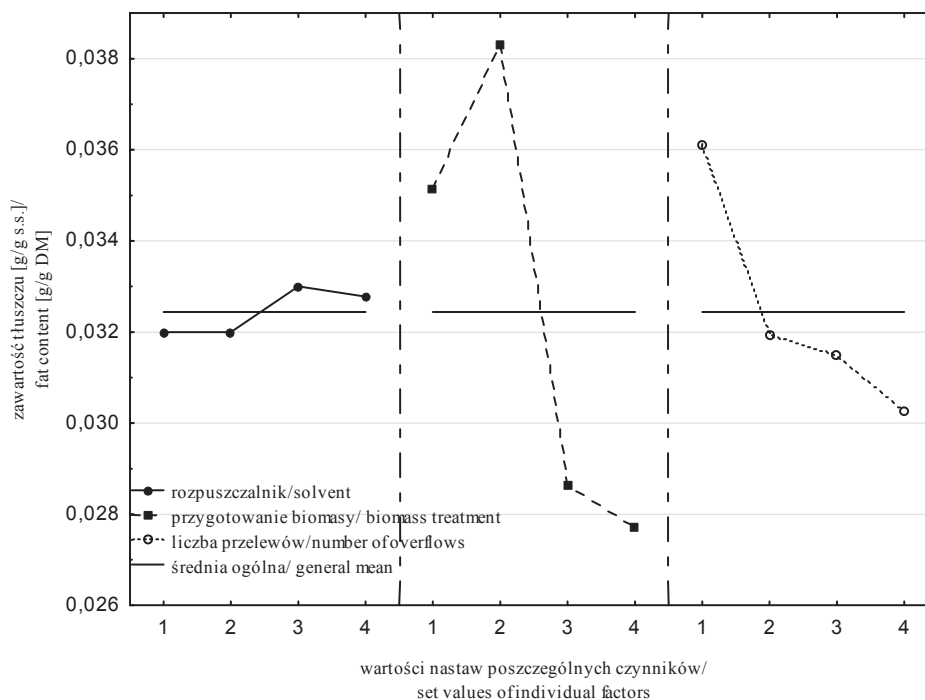
Wyniki i dyskusja

Wpływ wybranych czynników na ilość uzyskiwanego oleju mikrobiologicznego metodą ekstrakcji ciągłej w aparacie Soxhleta

W pierwszym doświadczeniu zbadano wpływ rodzaju rozpuszczalnika organicznego, sposobu przygotowania próbki biomasy drożdży oraz czasu ekstrakcji mierzonego liczbą przelewów na wydajność procesu ekstrakcji, czyli na ilość tłuszczu wydzielonego z komórek drożdży *Y. lipolytica*. Wyniki doświadczenia przedstawiono w formie wykresu efektów głównych na rys. 1. Zawartość lipidów w komórkach drożdży ekstrahowanych za pomocą eteru naftowego (1, 2) oraz heksanu (3, 4) nie różniła się w sposób statystycznie istotny i wynosiła odpowiednio: 0,032 i 0,033 g/g s.s. Podobnie liczba przelewów nie miała istotnego wpływu na badaną cechę, choć największą zawartość tłuszczu (0,036 g/g s.s.) uzyskano przy 18 przelewach ekstrakcji ciągłej. Wykazano także brak istotnego wpływu sposobu przygotowania próbki na zawartość tłuszczu w komórkach drożdży, choć tutaj największą zawartość oleju uzyskano z biomasy traktowanej preparatem Y-PER (0,038 g/g s.s). Sformułowano zatem przypuszczenie, że czynnikiem zakłócającym w doświadczeniu mogła być mała zawartość tłuszczu w namnożonej biomase drożdży, która uniemożliwiła zaobserwowanie różnic w wartościach zmiennej zależnej, mimo zróżnicowania poziomów czynników badanych.

Czynnikami sprzyjającymi magazynowaniu lipidów w komórce są: obniżenie poziomu dostępności źródła azotu oraz obecność w podłożu kwasów tłuszczowych lub triacylogliceroli. W podłożu YPO znajdowała się oliwa z oliwek jako lipidowe źródło węgla oraz duża zawartość peptonu jako źródło azotu. Jak podają Papanikolaou i Aggelis [12], zwiększona zawartość źródła azotu wpływa negatywnie na końcową wydajność biosyntezy oleju mikrobiologicznego. Największą zawartość tłuszczu w komórkach drożdży *Y. lipolytica* w niniejszej pracy, na poziomie 0,35 g/g s.m. drożdży, uzyskano w podłożu mineralnym MO5 zawierającym ograniczoną ilość azotu. W podłożu YPR, stanowiącym bogate źródło azotu, zawartość tłuszczu wewnątrzkomórkowego była znacząco mniejsza – 0,002 g/g s.m. Przy okazji wykazano, jak ważną rolę w mikrobiologicznej syntezie odgrywają warunki hodowli mikroorganizmów, co znajduje także potwierdzenie w innych badaniach nad akumulacją substancji lipidowych.

wych wewnątrz komórek drożdży w warunkach wyczerpania źródła azotu w podłożu hodowlanym [3, 10, 13].



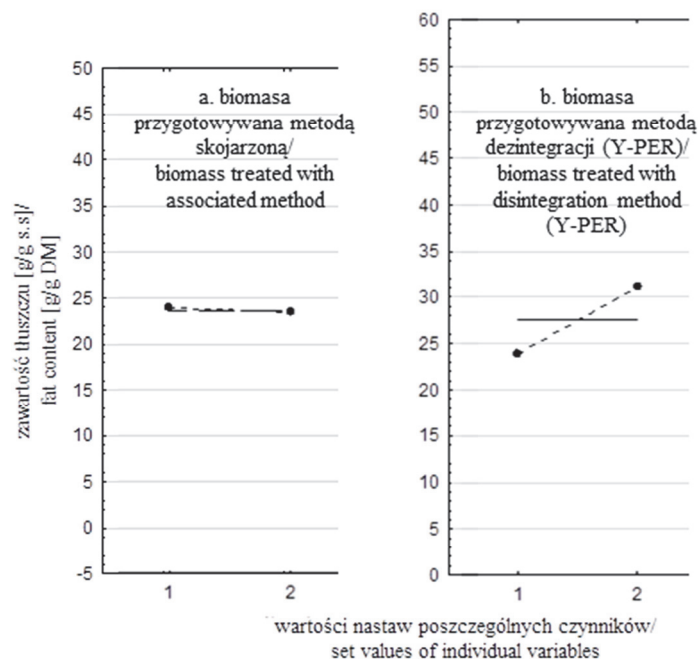
Objaśnienia / Explanatory notes:

Wartości nastaw czynników: / Set values of individual factors: rozpuszczalnik: / solvent: 1, 2 – eter naftowy / petroleum ether, 3, 4 – heksan / hexane; sposób przygotowania próbek: / sample treatment method: 1 – aceton / acetone, 2 – Y-PER; 3 – piasek / grit, 4 – metoda skojarzona / associated method; liczba przelewów: / number of overflows: 1 – 18, 2 – 14, 3 – 10, 4 – 6.

Rys. 1. Wykres efektów głównych doświadczenia na bazie kwadratu łacińskiego 4×4

Fig. 1. Diagram of main effects for experiment based on Latin Square Design 4×4

W drugim doświadczeniu dodatkowym badanym czynnikiem był rodzaj biomasy drożdży, z której ekstrahowano lipidy. Ponownie posłużono się planem kwadratów łacińskich, stosowanym, gdy efekt badanego czynnika jest silnie maskowany wpływami dominujących czynników zakłócających, które są znane i mogą być kontrolowane. Oceniono wpływ początkowej zawartości lipidów w biomasie drożdży oraz sposobu przygotowania próbek na wydajność procesu ekstrakcji (rys. 2).



Objaśnienia / Explanatory notes:

Wartości nastaw: sposób przygotowania próbek: / Set values: method of sample treatment: 1 – brak przygotowania / no treatment; 2 – metoda skojarzona (a) lub dezintegracji (preparat Y-PER) (b) / associated method (a) or disintegration method (Y-PER preparation) (b).

Rys. 2. Wykres efektów głównych doświadczenia 2×2 układu z biomasą przygotowywaną: a – metodą skojarzoną, b – metodą dezintegracji (preparat Y-PER)

Fig. 2. Diagram of main effects for experiment based on 2×2 design with biomass treated: a – with associated method, b – with disintegration method (Y-PER preparation)

Zaplanowano dwa układy. W pierwszym biomasę niepoddaną przygotowaniu porównywano z biomasą, wobec której stosowano metodę skojarzoną (rys. 2a), a w drugim – preparat lityczny Y-PER (rys. 2b). Na rys. 2a. przedstawiono wykres efektów głównych doświadczenia, w którym zastosowano wariant biomasy przygotowanej do ekstrakcji poprzez jednoczesne mechaniczne rozcieranie piaskiem oraz działanie na komórki acetonem. Wyniki próbek bez przygotowania oraz tych, w których na próbki działało metodą skojarzoną były zbliżone (ok. 0,024 g/g s.s.) i nie różniły się statystycznie istotnie. Istotnie wyższą wydajność ekstrakcji (0,312 g/g s.s.) uzyskano po zastosowaniu preparatu litycznego w stosunku do biomasy nieprzygotowanej (0,239 g/g s.s.).

Podsumowując oba układy, można stwierdzić, że etap przygotowania biomasy drożdży do procesu ekstrakcji poprzez działanie preparatem litycznym Y-PER wpłynął

na poprawę wyniku ługowania w sposób statystycznie istotny, a metoda skojarzona okazała się nieskuteczna w odniesieniu do ilości uzyskiwanego oleju. W drugim doświadczeniu wykazano statystycznie istotny wpływ tego czynnika na badaną cechę i stwierdzono maskujący efekt początkowej zawartości tłuszczu w komórce. Zastosowana metoda kwadratów łacińskich okazała się dogodną metodą statystyczną służącą do planowania i podsumowania wyników doświadczeń o niewielkim stopniu skomplikowania, co także sugerują w swojej pracy van Derlinden i wsp. [4].

Warto podkreślić, że zniszczenie ściany komórkowej drożdży lub jej permeabilizacja (zwiększenie przepuszczalności) to ważny etap mający na celu ułatwienia przenikania rozpuszczalnika do wnętrza komórek. Metody mechaniczne należą do najtańszych sposobów dezintegracji komórek, ale charakteryzują się niską selektywnością działania. Metody chemiczne (z użyciem rozpuszczalników lub związków powierzchniowo czynnych) i enzymatyczne są technikami generującymi wyższe koszty, a ich zastosowanie ogranicza się w dużej mierze do skali laboratoryjnej, pomimo że ich działanie jest specyficzne [7]. Brak jest niestety doniesień o badaniach wpływu metod przygotowania próbek do podobnych analiz. Według wiedzy autorów nie istnieją także podobne badania wpływu początkowej zawartości tłuszczu w komórce na sam proces ekstrakcji, a zatem nie jest możliwe ich porównanie.

*Wpływ wybranych warunków ekstrakcji na skład kwasów tłuszczowych w oleju mikrobiologicznym drożdży *Y. lipolytica**

Jedną z kluczowych zalet pozyskiwania tłuszczów z komórek mikroorganizmów jest możliwość precyzyjnego sterowania składem kwasów tłuszczowych triacylogliceroli wchodzących w skład oleju mikrobiologicznego. Dobierając odpowiednio szczep i gatunek mikroorganizmu, sterując składem pożywki hodowlanej oraz warunkami hodowli można uzyskać olej mikrobiologiczny wzbogacony w dowolne kwasy tłuszczowe [3, 10].

Już na etapie przygotowania materiału biologicznego oraz w czasie procesu ekstrakcji może dochodzić do pewnych zmian w składzie kwasów tłuszczowych ekstrahowanych tłuszczów. W tab. 3. przedstawiono skład kwasów tłuszczowych w lipidach ekstrahowanych z biomasy za pomocą dwóch różnych rozpuszczalników. Zawartość kumulowanego tłuszczu oraz jego skład różnią się w zależności od szczepu *Y. lipolytica*, a komórki mogą kumulować selektywnie kwasy tłuszczowe (tzw. synteza *ex novo*) w ciałkach lipidowych w zależności od składu podłoża hodowlanego [2, 11], dlatego autorom pracy zależało na hodowli biomasy w podłożu zawierającym równocześnie dwa różne oleje jako źródło węgla: oliwę z oliwek oraz olej odpadowy po procesie wędzenia ryb. Oleje te cechowały się odmiennym składem kwasów tłuszczowych [5] i dlatego możliwa była ocena wpływu zastosowanego rozpuszczalnika na profil szerokiej gamy tych związków (tab. 3). Zaobserwowano, że rodzaj rozpuszczalnika (eter

naftowy i heksan) miał istotny wpływ na zawartość trzech spośród czternastu kwasów tłuszczowych zidentyfikowanych w lipidach drożdży, tj. na zawartość kwasu palmitooleinowego, eikozapentaenowego i dokozaetatraenowego. Większą zawartość wymienionych kwasów oznaczano w próbkach ekstrahowanych heksanem. Wszystkie te kwasy miały co najmniej jedno wiązanie nienasycone w cząsteczce. Wpływ heksanu na ekstrakcję nienasyconych kwasów tłuszczowych wymaga z pewnością dalszych badań.

Tabela 3. Skład kwasów tłuszczowych oleju mikrobiologicznego ekstrahowanego z drożdży *Yarrowia lipolytica* przy użyciu dwóch rozpuszczalników [% sumy wszystkich kwasów tłuszczowych]

Table 3. Composition of fatty acids in microbial oil extracted from *Yarrowia lipolytica* yeasts using two different solvents [% of total of all fatty acids]

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj rozpuszczalnika / Type of solvent			
	Eter naftowy / Petroleum ether		Heksan / Hexane	
	$\bar{x}$	s / SD	$\bar{x}$	s / SD
C14:0 (kwas mirystynowy) C14:0 (myristic acid)	0,10	0,10	0,65	0,45
C14:1 (kwas tetradecenowy) C14:1 (tetradecenoic acid)	0,10	0,10	0,10	0,10
C16:0 (kwas palmitynowy) C16:0 (palmitic acid)	10,85	1,95	5,65	3,05
C16:1 (kwas palmitooleinowy) C16:1 (palmitoleic acid)	2,40*	0,80	7,10*	2,00
C18:0 (kwas stearynowy) C18:0 (stearic acid)	3,50	1,40	6,00	2,00
C18:1 (kwas oleinowy) C18:1 (oleic acid)	54,80	6,30	59,95	3,15
C18:2 (kwas linolowy) C18:2 (linoleic acid)	16,90	5,70	10,60	3,10
C18:3 (kwas linolenowy) C18:3 (linolenic acid)	3,70	1,60	2,55	0,55
C20:1 (kwas eikozenowy) C20:1 (eicosenic acid)	0,70	0,50	0,15	0,05
C20:5 (kwas eikozapentaenowy; EPA) C20:5 (eicosapentaenoic acid, EPA)	0,10*	0,10	0,80*	0,40
C22:0 (kwas behenowy) C22:0 (behenic acid)	0,90	0,30	0,40	0,20
C22:1 (kwas erukowy) C22:1 (erucic acid)	1,20	1,10	0,05	0,05
C22:4 (kwas dokozaetatraenowy) C22:4 (docosatetraenoic acid)	0,55*	0,25	3,70*	0,30
C22:6 (kwas dokozaheksaenowy; DHA) C22:6 (docosahexaenoic acid, DHA)	1,15	0,75	2,20	0,10

Objaśnienia / Explanatory notes:

$\bar{x}$ – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation.

* – różnice statystycznie istotne / *statistically significant differences.

Wnioski

1. Najskuteczniejszą z badanych metodą przygotowania próbki do ekstrakcji była dezintegracja komórek z wykorzystaniem detergentów za pomocą preparatu litycznego Y-PER w porównaniu z metodą chemiczną, mechaniczną oraz skojarzoną.
2. Rodzaj użytego rozpuszczalnika organicznego oraz czas ekstrakcji liczony liczbą przelewów w aparacie Soxhleta nie miały istotnego wpływu na wydajność procesu w przeprowadzonym układzie doświadczalnym.
3. Rodzaj rozpuszczalnika miał istotny wpływ na zawartość jedynie trzech spośród czternastu kwasów tłuszczowych zidentyfikowanych w lipidach drożdży, większą zawartość nienasyconych kwasów: palmitooleinowego, eikozapentaenowego i dokozatetraenowego oznaczono w próbkach ekstrahowanych heksanem.
4. Zawartość tłuszczu w komórkach okazała się czynnikiem maskującym w badaniach; zastosowanie statystycznych metod planowania doświadczenia umożliwiło „odmaskowanie” efektu wpływu sposobu przygotowania próbki na zmienną zależną, jaką była zawartość tłuszczu w biomacie drożdży.

Literatura

- [1] Ageitos J.M., Vallejo J.A., Veiga-Crespo P., Villa T.: Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, 90, 1219-1227.
- [2] Beopoulos A., Cescut J., Haddouche R., Uribealarea J.L., Molina-Jouve C., Nicaud J.M.: *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Prog. Lipid Res.*, 2009, 48 (6), 375-387.
- [3] Bialy H.E., Gomaa O.M., Azab K.S.: Conversion of oil waste to valuable fatty acids using oleaginous yeast. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, 27, 2791-2798.
- [4] Van Derlinden E., Mertens L., van Impe J.F.: The impact of experiment design on the parameter estimation of cardinal parameter models in predictive microbiology. *Food Control*, 2013, 29 (2), 300-308.
- [5] Fabiszewska A., Mazurczak P., Pielnińska A., Zieniuk B., Nowak D., Białecka-Florjańczyk E.: Próba zastosowania szczepu drożdży *Y. lipolytica* KKP 379 w zagospodarowaniu odpadów z zakładów przemysłu rybnego. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2014, 2, 28-33.
- [6] Fickers P., Benetti P.H., Waché Y., Marty A., Mauersberger S., Smit M.S., Nicaud J.M.: Hydrophobic substrate utilisation by the yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications. *Yeast Res.*, 2005, 5, 527-543.
- [7] Klimek-Ochab M., Brzezińska-Rodak M., Żymańczyk-Duda E., Lejczak B., Kafarski P.: Comparative study of fungal cell disruption – scope and limitations of the methods. *Folia Microbiologica*, 2011, 56 (5), 469-475.
- [8] Krzyczkowska J., Fabiszewska A.: *Yarrowia lipolytica* – niekonwencjonalne drożdże w biotechnologii. *Postępy Mikrobiologii*, 2015, 54 (1), 33-43.
- [9] Liang M., Jiang J.: Advancing oleaginous microorganism to produce lipid via metabolic engineering technology. *Prog. Lipid Res.*, 2013, 52, 395-408.
- [10] Papanikolaou S., Aggelis G.: Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture. *Bioresour. Technol.*, 2002, 82 (1), 43-49.
- [11] Papanikolaou S., Aggelis G.: Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry of single cell oil production. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, 113 (8), 1031-1051.

- [12] Papanikolaou S., Aggelis G.: Lipids of oleaginous yeasts. Part II: Technology and potential applications. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, 113 (8), 1052-1073.
- [13] Ratledge C.: Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production. *Biochimie*, 2004, 86 (11), 807-815.
- [14] Ratledge C.: Microbial oils: An introductory overview of current status and future prospects. *OCL*, 2013, 20 (6), D602, 1-7.
- [15] Carrasco-Pancorbo A., Navas-Iglesias N., Cuadros-Rodriguez L.: From lipid analysis towards lipidomics, a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part I: Modern lipid analysis. *TrAC*, 2009, 28 (3), 263-278.

**IMPACT OF SELECTED FACTORS ON EXTRACTION YIELD AND COMPOSITION
OF FATTY ACIDS IN MICROBIAL OIL PRODUCED FROM
YARROWIA LIPOLYTICA YEAST CELLS**

S u m m a r y

Yarrowia lipolytica yeasts are a model species of oleaginous microorganisms capable of accumulating lipids inside the cell in an amount exceeding 20 % of dry matter. In addition to studies on how to increase the efficiency of oil biosynthesis, an important issue is, also, the selection of conditions for lipid extraction from yeast biomass. The objective of the research study was to assess the impact of some selected parameters (type of solvent, sample treatment method, and the duration of the process) on the yield of extraction, run in an Soxhlet extractor, of lipids contained in cells of wild strain of *Y. lipolytica* KKP 379 yeast, and on the composition of fatty acids in the microbial oil produced. The yeasts were cultured in a batch process, in a laboratory bioreactor in a rich YPO medium, as well as in nitrogen restricted mineral media; thus, it was possible to obtain a cell biomass with varying contents of microbial oil. In the research, Latin Square Designs were applied so that the effect of biomass treatment method could be unmasked on the dependent variable, i.e. the content of lipids in the yeast biomass. The best results were achieved when the biomass was prepared using a commercial preparation of Y-PER. The applied duration time of extraction and the used type of solvent (petroleum ether or hexane) did not significantly impact the process yield. However, the type of solvent impacted the content of three fatty acids of the fourteen identified in the lipids extracted from the yeast biomass, i.e. the content of palmitoleic, eicosapentaenoic, and docosatetraenoic acids. Higher contents of the above mentioned compounds were determined in the hexane extracted samples.

Key words: *Yarrowia lipolytica*, oleaginous yeasts, continuous extraction, microbial oil, Latin Square Designs, fatty acids ☒

JULIA OLECHNOWICZ, HALINA STANIEK

OCENA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH PIERWIASTKÓW W RÓŻNYCH RODZAJACH CZEKOLAD

Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości wybranych pierwiastków (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn i Zn) w różnych rodzajach czekolad. Analizie poddano 20 czekolad, w tym: białe (B), mleczne (M) i gorzkie (G) o różnej zawartości masy kakaowej. Pogrupowano je według zawartości suchej masy kakaowej następująco [%]: G6 – 60, G7 – 70, G8 – do 85, G9 – 90. Suchą masę w próbkach oznaczono metodą suszarkowo-wagową. Oznaczenie zawartości Ca, Mg, Cu, Fe, Mn i Zn wykonano metodą płomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej (F-AAS) przy użyciu spektrometru AAS-3 Carl-Zeiss po uprzedniej mineralizacji próbek techniką spopielenia w piecu mufowym.

Zaobserwowano istotnie większą zawartość Mg, Fe, Zn, Mn oraz Cu w czekoladach gorzkich w porównaniu z czekoladami mleczną i białą. Zawartość tych pierwiastków była tym większa, im większy był udział kakao w czekoladzie. W czekoladach gorzkich zawartość magnezu wynosiła $1545,40 \div 2862,55 \mu\text{g/g s.m.}$. Wykazano także znaczne ilości cynku ($356,70 \div 511,35 \mu\text{g/g s.m.}$) i żelaza ($127,47 \div 155,74 \mu\text{g/g s.m.}$), a mniejsze – miedzi ($16,49 \div 25,37 \mu\text{g/g s.m.}$) i manganu ($15,85 \div 21,46 \mu\text{g/g s.m.}$). Z kolei w czekoladach mlecznych i białych przeważał wapń, którego zawartość wahała się w granicach $3396,21 \div 4313,44 \mu\text{g/g s.m.}$

Czekolady gorzkie o większej zawartości suchej masy kakaowej mogą być dobrym źródłem Mg, Fe, Zn oraz Mn i Cu w diecie. Natomiast znaczącymi nośnikami wapnia mogą być czekolady białe i mleczne.

Słowa kluczowe: czekolada, rodzaje czekolad, pierwiastki, zawartość

Wprowadzenie

Czekolada jest wyrobem głównie cukierniczym, chociaż stosuje się ją również do dań wytrawnych. Uzyskiwana jest z miazgi kakaowej, masła kakaowego (tłuszczu kakaowego) oraz dodatku cukru lub substancji słodzącej w wieloetapowym procesie produkcji. Proces ten obejmuje fermentację ziaren kakaowca, następnie ich suszenie,

*Mgr J. Olechnowicz, dr H. Staniek, Katedra Higieny Żywności Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań.
Kontakt: juolirole@gmail.com*

czyszczenie, prażenie, mielenie, zgniatanie, walcowanie, konszowanie oraz temperowanie [13].

Czekolada jest źródłem flawonoidów o prozdrowotnych właściwościach, szczególnie flawan-3-olu [9]. W badaniach potwierdzono pozytywny wpływ flawonoidów zawartych w gorzkiej czekoladzie na poprawę wyników badań morfologicznych pacjentów z zespołem metabolicznym [6]. Zomer i wsp. [14] wykazali, że konsumpcja gorzkiej czekolady ma dla organizmu znaczenie hipotensyjne i hipolemizujące. W innych badaniach stwierdzono, że spożycie gorzkiej czekolady zmniejsza ryzyko zachorowania na insulinooporność i miażdżycę [3]. Oboh i wsp. [8] udokumentowali z kolei korzystny wpływ konsumpcji gorzkiej czekolady na obniżenie poziomu glukozy we krwi i ciśnienia tętniczego krwi. Równocześnie produkt ten jest również źródłem nasyconych kwasów tłuszczowych [6], dlatego zaleca się spożywanie niewielkich ilości gorzkiej czekolady o zawartości > 70 % suchej masy kakaowej pacjentom z zespołem metabolicznym [7].

Celem niniejszej pracy była ocena zawartości wybranych pierwiastków (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn) w czekoladach w zależności od ich rodzaju.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiło 20 czekolad, w tym: 3 białe (B), 5 mlecznych (M) oraz 12 gorzkich (G), które dodatkowo pogrupowano w zależności od zawartości suchej masy kakaowej (s.m.k.) [%] na: G6 – 60, G7 – 70, G8 – do 85 oraz G9 – 90. Czekolady zakupiono w sieci handlowej.

Oznaczenie zawartości pierwiastków (Ca, Fe, Mg, Zn, Mn, Cu) w czekoladach wykonywano metodą płomieniowej spektrometrii atomowo-absorpcyjnej (F-AAS). W pierwszym etapie oznaczano zawartość suchej masy czekolad. W tym celu odważano ok. 1 g odpowiednio rozdrobnionej czekolady w 3 równoległych powtórzeniach na wadze analitycznej LC 620 S (Sartorius, Niemcy). Następnie wszystkie próbki suszono w suszarce laboratoryjnej SUP-30 (Wamed, Polska) w standardowej temperaturze suszenia – 105 °C do uzyskania stałej masy. Następnie badane próbki poddawano mineralizacji techniką „na sucho”. Odważano na wadze analitycznej ok. 5 g czekolady do tygli kwarcowych w 3 równoległych powtórzeniach. Próbkę spopielano w piecu muflowym P 330 (Nabertherm, Niemcy) w temp. 550 °C w ciągu 10 h. Powstały popiół roztworzano roztworem 1N (4 mol/l) HNO₃ (Merck, GR ISO, Niemcy) i przenoszono ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 ml wykonanych z polipropylenu. W powstałych próbkach oznaczano zawartość Ca, Mg, Fe, Mn, Zn oraz Cu metodą płomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej F-AAS przy użyciu spektrometru AAS-3, (Carl Zeiss, Niemcy) bezpośrednio lub po uprzednim rozcieńczeniu próbek wodą dejonizowaną do zakresu pomiarowego aparatu. W przypadku Ca i Mg do rozcieńczenia używano 0,5-procentowego roztworu chlorku lantanu (LaCl₃·7H₂O, Merck,

Niemcy) w celu niwelowania interferencji. Wapń oznaczano przy długości fali $\lambda = 422,7$ nm w zakresie krzywej standardowej $0 \div 5,0$ ug/ml, Mg – $\lambda = 285,2$ nm ($0 \div 2,0$ ug/ml), Fe – $\lambda = 248,3$ nm ($0 \div 2,5$ ug/ml), Zn – $\lambda = 213,9$ nm ($0 \div 2,5$ ug/ml), Mn – $\lambda = 279,5$ nm ($0 \div 2,0$ ug/ml), Cu – $\lambda = 324,8$ nm ($0 \div 2,0$ ug/ml).

Po weryfikacji uzyskanych wyników pod względem błędów grubych poddano je analizie statystycznej przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel 2010 oraz programu statystycznego Statistica ver. 10 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe, a następnie przeprowadzono weryfikację statystyczną uzyskanych wyników za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA oraz testu Tukeya przy poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Średnie zawartości badanych pierwiastków wraz z odchyleniami standardowymi przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Zawartość badanych pierwiastków w różnych rodzajach czekolad

Table 1. Content of analyzed elements in different types of chocolates

Rodzaj czekolady Type of chocolate		Zawartości pierwiastków [$\mu\text{g/g s.m.}$] / Contents of elements [$\mu\text{g/g d.m.}$]					
		Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
Biała White n = 3	B	3396,21 ^b ± 323,22	292,77 ^a ± 96,87	0,17 ^a ± 0,03	14,98 ^a ± 2,08	0,32 ^a ± 0,08	158,96 ^a ± 24,19
Mleczna Milk n = 5	M	4313,44 ^c ± 430,21	701,14 ^a ± 110,92	3,33 ^b ± 0,74	46,12 ^{ab} ± 17,95	5,29 ^a ± 1,96	417,00 ^{bc} ± 62,37
Gorzka 60 % Dark 60 % n = 3	G6	1011,15 ^a ± 272,28	1545,40 ^b ± 438,07	16,49 ^c ± 3,47	139,93 ^c ± 85,33	17,30 ^b ± 5,80	356,70 ^b ± 51,69
Gorzka 70 % Dark 70 % n = 3	G7	1029,48 ^a ± 140,10	2094,40 ^c ± 168,44	17,07 ^c ± 2,78	155,74 ^c ± 75,28	18,27 ^b ± 4,04	363,14 ^b ± 45,20
Gorzka do 85 % Dark up to 85 % n = 4	G8	1245,58 ^a ± 133,85	2285,21 ^c ± 330,48	18,80 ^c ± 1,56	151,83 ^c ± 32,93	15,85 ^b ± 1,41	439,88 ^c ± 73,14
Gorzka 90 % Dark 90 % n = 2	G9	1469,27 ^a ± 281,41	2862,55 ^d ± 564,27	25,37 ^d ± 1,27	127,47 ^{bc} ± 50,50	21,46 ^b ± 8,33	511,35 ^c ± 37,34

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ / mean values in columns and denoted with different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Wykazano, że największą zawartością wapnia odznaczała się czekolada mleczna (4313 $\mu\text{g/g}$ s.m.) oraz biała (3396 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Były to ilości 4-krotnie większe od oznaczonych w czekoladzie gorzkiej G6. Natomiast w czekoladach gorzkich G7, G8 i G9 poziomy wapnia były niższe i wynosiły odpowiednio [$\mu\text{g/g}$ s.m.]: 1029,48 μg , 1245,58 μg oraz 1469,27 μg . Wyższe poziomy wapnia w czekoladach białej i mlecznej spowodowane były tym, że w ich składzie znaczny był udział masy mlecznej bogatej w ten pierwiastek.

Wraz ze wzrostem udziału miazgi kakaowej analizowanych czekolad zaobserwowano wzrost zawartości magnezu, którego najwięcej było w czekoladzie G9 – 2862,55 $\mu\text{g/g}$ s.m. W czekoladach gorzkich o mniejszej zawartości s.m.k, czyli G8, G7 oraz G6, poziom tego pierwiastka zmniejszał się i wynosił odpowiednio [$\mu\text{g/g}$ s.m.]: 2285,21 μg , 2094,40 μg i 1545,40 μg . Czekolady biała i mleczna charakteryzują się niewielkim udziałem lub brakiem miazgi kakaowej będącej dobrym źródłem magnezu, dlatego w czekoladach tych odnotowano nawet 10-krotnie mniejszą zawartość tego pierwiastka. Poziom tego pierwiastka w czekoladzie białej wynosił 292,77 $\mu\text{g/g}$ s.m., a w mlecznej – 701,14 $\mu\text{g/g}$ s.m.

Zaobserwowano wzrost zawartości miedzi wraz ze zwiększającym się udziałem masy kakaowej. W czekoladach białej i mlecznej zawartość tego pierwiastka wynosiła odpowiednio [$\mu\text{g/g}$ s.m.]: 0,17 μg oraz 3,33 μg . Prawie 95-krotnie wyższe poziomy miedzi stwierdzono natomiast w czekoladach gorzkich G6, G7 oraz G8 w porównaniu z czekoladami białą i mleczną. Zawartość tego pierwiastka w czekoladzie gorzkiej z 90-procentowym udziałem masy kakaowej (G9) była zaś największa i wynosiła 25,37 $\mu\text{g/g}$ s.m.

Podobną zależność wykazano w przypadku żelaza. Wśród badanych czekolad gorzkich próbki G9 zawierały najmniej tego pierwiastka (127,47 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Czekolada G6 zawierała żelazo średnio na poziomie 139,93 $\mu\text{g/g}$ s.m., G7 – 155,74 $\mu\text{g/g}$ s.m., a G8 – 151,83 $\mu\text{g/g}$ s.m. Wartości te były znacznie wyższe niż zawartość żelaza w czekoladzie białej – 14,98 $\mu\text{g/g}$ s.m. oraz mlecznej – 46,12 $\mu\text{g/g}$ s.m.

Wraz ze wzrostem udziału miazgi kakaowej w czekoladach zwiększała się także zawartość manganu. Najmniej stwierdzono go w czekoladzie białej (0,32 $\mu\text{g/g}$ s.m.) oraz mlecznej (5,29 $\mu\text{g/g}$ s.m.), najwięcej natomiast (nawet 70-krotnie więcej) – w czekoladzie gorzkiej G9. Dużą zawartością Mn cechowały się również czekolady gorzkie G6 (17,30 $\mu\text{g/g}$ s.m.), G7 (18,27 $\mu\text{g/g}$ s.m.) oraz G8 (15,85 $\mu\text{g/g}$ s.m.).

Wykazano także zróżnicowaną zawartość cynku w badanych czekoladach. Najmniej stwierdzono go w czekoladzie białej (158,96 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Najwięcej Zn było natomiast w czekoladzie gorzkiej G9 (511,35 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Zawartość cynku w czekoladzie mlecznej wynosiła 417,00 $\mu\text{g/g}$ s.m. i była większa niż w czekoladach gorzkich G6 (356,70 $\mu\text{g/g}$ s.m.) oraz G7 (363,14 $\mu\text{g/g}$ s.m.). W czekoladzie gorzkiej G8 zawartość ta była jeszcze większa i wynosiła 439,88 $\mu\text{g/g}$ s.m.

Zawartość analizowanych pierwiastków oznaczona przez innych autorów była zróżnicowana. Ieggli i wsp. [5] stwierdzili w białej czekoladzie zawartość wapnia w zakresie $3203 \div 4534 \mu\text{g/g s.m.}$. Podobne wyniki uzyskano w badaniach własnych. Pod względem zawartości magnezu ($325,7 \div 496,8 \mu\text{g/g s.m.}$) i żelaza ($1,2 \div 3,0 \mu\text{g/g s.m.}$) oraz cynku – $10,3 \div 13,5 \mu\text{g/g s.m.}$ [5] wyniki badań własnych były odpowiednio: 2- i 14-krotnie wyższe. W czekoladzie mlecznej oznaczona przez cytowanych autorów zawartość wapnia ($1546 \div 2523 \mu\text{g/g s.m.}$) i żelaza ($14,7 \div 27,4 \mu\text{g/g s.m.}$) była prawie 3-krotnie mniejsza od wyników własnych, a cynku ($7,5 \div 10,7 \mu\text{g/g s.m.}$) – 40-krotnie mniejsza. Zawartość magnezu wynosiła $528,6 \div 867,2 \mu\text{g/g s.m.}$ [5]. W badaniach własnych zawartość magnezu kształtowała się na zbliżonym poziomie. Z kolei w czekoladzie gorzkiej z 70-procentowym udziałem s.m.k. Ieggli i wsp. [5] oznaczyli [$\mu\text{g/g s.m.}$]: $692,4 \mu\text{g}$ wapnia, $1834 \mu\text{g}$ magnezu i $140 \mu\text{g}$ żelaza, co jest niższym poziomem niż stwierdzono w badaniach własnych. W czekoladzie badanej przez wymienionych autorów było prawie 16-krotnie mniej cynku ($23,3 \mu\text{g/g s.m.}$). W czekoladzie białej Ieggli i wsp. [4] oznaczyli zawartość manganu na poziomie $0,8 \div 2,7 \mu\text{g/g s.m.}$ (9-krotnie więcej niż w badaniach własnych), a miedzi – $0,1 \div 0,2 \mu\text{g/g s.m.}$ (poziom zbliżony do wyników własnych). Czekolada mleczna analizowana przez wymienionych autorów [4] zawierała mangan na poziomie $3,6 \div 5,2 \mu\text{g/g s.m.}$ oraz miedź – $1,5 \div 2,3 \mu\text{g/g s.m.}$ W badaniach własnych uzyskano zbliżone wyniki pod względem zawartości manganu i 2-krotnie wyższe – miedzi. W czekoladzie gorzkiej z 70-procentowym udziałem s.m.k. średnia zawartość manganu ($17,3 \mu\text{g/g s.m.}$) [4] była porównywalna z wynikami własnymi, a pod względem zawartości miedzi ($12,4 \mu\text{g/g s.m.}$) [4] – nieznacznie mniejsza.

W czekoladzie mlecznej analizowanej przez Rehmana i wsp. [11] zawartości żelaza ($30 \mu\text{g/g s.m.}$), manganu ($4,4 \mu\text{g/g s.m.}$) oraz miedzi ($3,1 \mu\text{g/g s.m.}$) były zbliżone do wyników własnych. Pod względem zawartości cynku ($12,7 \mu\text{g/g s.m.}$) [11] wyniki własne były nawet 32-krotnie wyższe. Zawartości magnezu ($460 \div 693 \mu\text{g/g s.m.}$), żelaza ($20,1 \div 88,1 \mu\text{g/g s.m.}$), manganu ($2,73 \div 6,02 \mu\text{g/g s.m.}$) i miedzi ($3,09 \div 6,10 \mu\text{g/g s.m.}$) w czekoladzie mlecznej podane przez Sagera [12] można uznać za porównywalne z wynikami własnymi. W porównaniu z wynikami własnymi autor [12] oznaczył nieznacznie mniej wapnia ($1422 \div 2447 \mu\text{g/g s.m.}$) i nawet 46-krotnie mniej cynku ($9,11 \div 17 \mu\text{g/g s.m.}$). Za zbliżone z wynikami własnymi można uznać poziomy magnezu ($1467 \div 2383 \mu\text{g/g s.m.}$), żelaza ($45,7 \div 162 \mu\text{g/g s.m.}$), manganu ($13,1 \div 21,5 \mu\text{g/g s.m.}$) oraz miedzi ($9,91 \div 26,7 \mu\text{g/g s.m.}$) wykazane przez Sagera [12] w czekoladzie gorzkiej z 70-procentowym udziałem s.m.k. Nieznacznie mniejszy od wyników własnych był natomiast poziom wapnia ($573 \div 890 \mu\text{g/g s.m.}$), a poziom cynku ($22,4 \div 41,5 \mu\text{g/g s.m.}$) w tym produkcie [12] był aż 16-krotnie niższy. Z kolei Peixoto wsp. [10] określili w czekoladzie białej średnie zawartości miedzi ($0,17 \mu\text{g/g s.m.}$) i manganu ($0,23 \mu\text{g/g s.m.}$), które były zbliżone do wyników własnych, natomiast

zawartości żelaza ($1,60 \mu\text{g/g s.m.}$) i cynku ($3,89 \mu\text{g/g s.m.}$) należy ocenić odpowiednio jako 9-krotnie i prawie 40-krotnie mniejsze od wyników własnych. W czekoladzie mlecznej poziomy miedzi ($3,30 \mu\text{g/g s.m.}$) oraz manganu ($4,03 \mu\text{g/g s.m.}$) oznaczone przez wymienionych autorów różniły się od wyników własnych. Zawartość cynku ($10,65 \mu\text{g/g s.m.}$) [10] była prawie 38-krotnie mniejsza, chociaż zawartość żelaza ($56,44 \mu\text{g/g s.m.}$) [10] była większa od wyników własnych.

Analizy zawartości manganu, miedzi, cynku oraz żelaza w czekoladach białych i mlecznych przeprowadzili również Alagić i wsp. [1]. Wykazali, że czekolada biała zawierała [$\mu\text{g/g s.m.}$]: $0,33 \div 0,67 \mu\text{g}$ manganu, $0,63 \div 0,92 \mu\text{g}$ miedzi oraz $3,59 \div 14,37 \mu\text{g}$ żelaza i były to wartości porównywalne z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy. Natomiast zawartość cynku była nawet 22-krotnie mniejsza i wynosiła $2,00 \div 7,08 \mu\text{g/g s.m.}$ [1]. W porównaniu z wynikami własnymi w czekoladzie mlecznej, badanej przez ww. autorów [1], było nieznacznie więcej miedzi – $2,75 \div 3,38 \mu\text{g/g s.m.}$, nawet 100-krotnie mniej cynku – $4,38 \div 10,17 \mu\text{g/g s.m.}$, 2-krotnie mniej żelaza – $18,64 \div 20,44 \mu\text{g/g s.m.}$ i porównywalnie manganu – $2,75 \div 3,13 \mu\text{g/g s.m.}$.

Zawartość wapnia, magnezu, miedzi, żelaza, cynku i manganu w czekoladach mlecznych i gorzkich o zawartości suchej masy kakaowej [%]: 60, 70, 80 i 90 badali także Cinquanta i wsp. [2]. W czekoladzie mlecznej zawartość żelaza wynosiła $11,9 \mu\text{g/g s.m.}$ (4-krotnie mniej niż w badaniach własnych), wapnia – $1804,3 \mu\text{g/g s.m.}$ (2-krotnie mniej niż w badaniach własnych) oraz manganu – $3,1 \mu\text{g/g s.m.}$ (10-krotnie więcej niż w badaniach własnych). Średnie zawartości magnezu ($522,8 \mu\text{g/g s.m.}$) i miedzi ($3,1 \mu\text{g/g s.m.}$) były zbliżone do wyników przedstawionych w niniejszej pracy. W czekoladach gorzkich zawartość wapnia była prawie 2 razy mniejsza od wyników własnych. Według wymienionych autorów [2] czekolady gorzkie o udziale suchej masy kakaowej (s.m.k.) 60 % zawierały [$\mu\text{g/g s.m.}$]: $643,3 \mu\text{g}$ wapnia, 70 % s.m.k. – $795,1 \mu\text{g}$, 80 % s.m.k. – $724,1 \mu\text{g}$, a 90 % s.m.k. – $908,3 \mu\text{g}$. Z kolei średnie zawartości żelaza w czekoladach [% s.m.k.]: 60, 70, 80 i 90 wynosiły odpowiednio [$\mu\text{g/g s.m.}$]: $97,3 \mu\text{g}$, $98,4 \mu\text{g}$, $112,4 \mu\text{g}$ i $108,9 \mu\text{g}$. W niniejszej pracy odnotowano również prawie 16-krotnie mniejsze ilości cynku w czekoladach gorzkich w stosunku do wyników Cinquanty i wsp. [2], którzy wykazali w czekoladach następujące zawartości tego pierwiastka [$\mu\text{g/g s.m.}$]: 60 % s.m.k. – $22,4 \mu\text{g}$, 70 % s.m.k. – $31,9 \mu\text{g}$, 80 % s.m.k. – $28,5 \mu\text{g}$, i 90 % s.m.k. – $35,2 \mu\text{g}$. Ww. autorzy stwierdzili również, że średnie poziomy magnezu w czekoladach gorzkich z udziałem s.m.k w ilości [%]: 60, 70, 80 i 90 wynosiły odpowiednio [$\mu\text{g/g s.m.}$]: $1587,8 \mu\text{g}$, $1922,3 \mu\text{g}$, $1987,6 \mu\text{g}$ i $2522,1 \mu\text{g}$. Były to ilości porównywalne z przedstawionymi w niniejszej pracy. Podobne do wyników własnych zawartości miedzi zostały oznaczone w czekoladach gorzkich [$\mu\text{g/g s.m.}$]: 60 % s.m.k. – $14,3 \mu\text{g}$, 70 % s.m.k. – $18,3 \mu\text{g}$, 80 % s.m.k. – $17,8 \mu\text{g}$ i 90 % s.m.k. – $20,2 \mu\text{g}$ [2]. Ponadto poziomy manganu w czekoladach gorzkich z udziałem s.m.k.

[%]: 60, 70, 80 i 90 również były podobne do wyników własnych i wynosiły odpowiednio [$\mu\text{g/g s.m.}$]: 16,5 μg , 19,8 μg , 18,5 μg i 20,5 μg .

Różnice pod względem zawartości badanych pierwiastków w zależności od rodzaju czekolad pomiędzy wynikami badań własnych a wynikami przedstawionymi przez innych autorów mogą wynikać przede wszystkim z odmiennego składu surowców wykorzystanych do ich produkcji.

Stwierdzono, że czekolada może stanowić dobre źródło takich składników mineralnych w diecie człowieka, jak: wapń (Ca), magnez (Mg), żelazo (Fe), cynk (Zn), mangan (Mn) czy miedź (Cu). Spożycie 100 g gorzkiej czekolady o zawartości 70 % suchej masy kakaowej pokrywało zapotrzebowanie na te pierwiastki odpowiednio w [%]: 0,1, 0,7, 1,4, 5, 0,5 i 3. Z kolei czekolada gorzka (100 g produktu) o udziale 90 % s.m.k. mogła zaspokoić zapotrzebowanie na wapń, magnez, miedź, żelazo, mangan i cynk odpowiednio w [%]: 0,1, 1, 2,8, 1,4, 0,5 i 6,2.

W przypadku wapnia konsumpcja czekolad białych i mlecznych może stanowić jedynie uzupełnienie zrównoważonej diety.

Wnioski

1. Wraz ze wzrostem zawartości kakao w czekoladach zwiększała się zawartość badanych pierwiastków.
2. Największymi zawartościami magnezu, żelaza, manganu, cynku oraz miedzi odznaczały się czekolady gorzkie o wysokim udziale suchej masy kakaowej. Natomiast czekolady mleczne i białe cechowała duża zawartość wapnia.
3. Czekolady gorzkie mogą stanowić dobre źródło Mg, Fe, Zn, Mn i Cu w żywieniu, ale w Ca bogatsze były czekolady białe i mleczne. 100 g czekolady gorzkiej o zawartości 70 % suchej masy kakaowej pokrywało zapotrzebowanie na Mg w 0,7 %, Zn – 5 % i Cu – 3 %. Czekolada gorzka o udziale 90 % s.m.k. pokrywała z kolei zapotrzebowanie na te pierwiastki odpowiednio w [%]: 1, 6,2 i 2,8.
4. Czekolady mleczne w ilości 100 g pokrywały 0,4 % dziennego zapotrzebowania na wapń.

Badania były finansowane z dotacji przedmiotowej na utrzymanie potencjału badawczego nr. 508-786-00.

Literatura

- [1] Alagić N., Huremović J.: Determination of metal contents in various chocolate samples. Glas. Hem. Technol. Bosne Herceg., 2015, 45, 39-42.
- [2] Cinquanta L., Di Cesare C., Manoni R., Piano A., Roberti P., Salvatori G.: Mineral essential elements for nutrition in different chocolate products. Int. J. Food Sci. Nutr., 2016, 67 (7), 773-778.
- [3] Grassi D., Desideri G., Ferri C.: Protective effects of dark chocolate on endothelial function and diabetes. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 2013, 16 (6), 662-668.

- [4] Ieggli C.V.S., Bohrer D., Nascimento P.C., Carvalho L.M., Gobo L.A.: Determination of aluminum, copper and manganese content in chocolate samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a micro-emulsion technique. *J. Food Comp. Anal.*, 2010, 24 (3), 465-468.
- [5] Ieggli C.V.S., Bohrer D., Nascimento P.C., Carvalho L.M., Gobo L.A.: Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc and iron in emulsified chocolate samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chem.*, 2011, 124 (3), 1189-1183.
- [6] Latif R.: Chocolate/cocoa and human health: A review. *Neth. J. Med.*, 2013, 71 (2), 63-68.
- [7] Majewska M., Cieczot H.: Flawonoidy w profilaktyce i terapii. *Farm. Pol.*, 2009, 65 (5), 369-377.
- [8] Oboh G., Ademosun A.O., Ademiluyi A.O., Omojokun O.S., Nwanna E., Longe K.O.: *In vitro* studies on the antioxidant property and inhibition of α -amylase, α -glucosidase, and angiotensin I-converting enzyme by polyphenol-rich extracts from cocoa (*Theobroma cacao*) Bean. *Patholog. Res.*, 2014, Art. ID 549287, 1-6.
- [9] Olechnowicz J., Suliburska J.: Możliwości zastosowania gorzkiej czekolady i zawartych w niej flawonoidów w profilaktyce i terapii zespołu metabolicznego. *Forum Zab. Met.*, 2015, 6 (2), 49-55.
- [10] Peixoto R.R.A., Villa J.E.L., Silva F.F., Cadore S.: Nutrition evaluation of the mineral composition of chocolate bars: Total contents vs. bioaccessible fractions. *J. Food Process. Technol.*, 2016, 7 (4), 1-5.
- [11] Rehman S., Husnain S.M.: Assessment of trace metal contents in chocolate samples by Atomic Absorption Spectrometry. *J. Trace Element Anal.*, 2012, 1 (1), 1-11.
- [12] Sager M.: Chocolate and cocoa products as a source of essential elements in nutrition. *J. Nutr. Food Sci.*, 2012, 2 (1), 1-10.
- [13] Verna R.: The history and science of chocolate. *Malaysian J. Pathol.*, 2013, 35 (2) 111-121.
- [14] Zomer E., Owen A., Magliano D.J., Liew D., Reid C.M.: The effectiveness and cost effectiveness of dark chocolate consumption as prevention therapy in people at high risk of cardiovascular disease: Best case scenario analysis using a Markov model. *B.M.J.*, 2012, 344, e3657, 1-10.

ASSESSING CONTENTS OF SELECTED ELEMENTS IN DIFFERENT TYPES OF CHOCOLATES

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the contents of some selected elements (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, and Zn) in different types of chocolates. 20 chocolates were analyzed, including: white chocolates (B), milk chocolates (M), and dark chocolates (G) with various contents of cocoa mass. Based on the content of dry cocoa mass, they were grouped as follows [%]: G6: 60; G7: 70 %; G8: up to 85; G9: 90 %. The dry mass in the samples was determined using a dry oven test. The contents of Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, and Zn were determined by a flame atomic absorption spectrophotometry (F-AAS) method using an AAS-3 Carl-Zeiss spectrometer (Jena, Germany) after the "dry" method mineralization of samples in a muffle furnace.

It was found that the contents of Mg, Fe, Cu, Mn, and Zn were significantly higher in the dark chocolates than in the milk and white chocolates. The content of those elements was the higher the greater the cocoa content therein was. In the dark chocolates, the content of magnesium was between 1545.40 $\mu\text{g/g}$ and 2862.55 $\mu\text{g/g d.m.}$ There were shown considerable contents of zinc ($356.70 \div 511.35 \mu\text{g/g d.m.}$) and iron ($127.47 \div 155.74 \mu\text{g/g s.m.}$) and lower contents of copper ($16.49 \div 25.37 \mu\text{g/g d.m.}$) and manganese ($15.85 \div 21.46 \mu\text{g/g s.m.}$). Then, calcium was prevalent in the milk and whites chocolates and its content ranged between 3396.21 $\mu\text{g/g d.m.}$ and 4313.44 $\mu\text{g/g d.m.}$

The dark chocolates with a higher content of dry matter can be a good source of Mg, Fe, Zn, Mn, and Cu in the diet. And white and milk chocolates can be significant carriers of calcium.

Key words: chocolate, types of chocolates, elements, content 

TERESA WITCZAK, ANNA STĘPIEŃ, KAROLINA PYCIA,
MARIUSZ WITCZAK, AGATA BEDNARZ, MIROŚLAW GRZESIK

WPLYW MODYFIKACJI CHEMICZNEJ SKROBI I STOPNIA HYDROLIZY NA IZOTERMY SORPCJI PARY WODNEJ HYDROLIZATÓW

Streszczenie

W pracy badano właściwości sorpcyjne maltodekstryn uzyskanych w reakcji enzymatycznej hydrolizy skrobi ziemniaczanej natywnej, acetylowanej oraz fosforanu diskrobiowego. Określono również wpływ uzyskanego stopniu scukrzenia (DE 6, 11, 16) na higroskopijność produktów. Izotermy sorpcji wyznaczono metodą statyczną w środowisku o aktywności wody $0 \div 0,903$ w temp. 25 °C. Do opisu izoterm zastosowano trzy modele matematyczne. Stwierdzono, że czteroparametrowy model Pelega umożliwił prezentację danych eksperymentalnych w pełnym badanym zakresie aktywności wody, podczas gdy wykorzystanie modeli BET i GAB wymagało ograniczenia danych. Wszystkie uzyskane krzywe charakteryzowały się sigmoidalnym kształtem, charakterystycznym dla izoterm typu II według klasyfikacji Brunauera i wsp. W zakresie adsorpcji mono- i wielowarstwowej badane hydrolizaty wykazywały zbliżone właściwości. Największe różnice w równowagowej zawartości wilgoci zaobserwowano przy aktywności wody większej od 0,7. Stwierdzono, że właściwości sorpcyjne badanych produktów uwarunkowane były głównie stopniem scukrzenia, natomiast modyfikacja chemiczna skrobi wpłynęła znacznie na ilość pochłoniętej wilgoci tylko w środowisku o wysokiej aktywności wody.

Słowa kluczowe: maltodekstryny, równoważnik glukozowy, skrobie modyfikowane, izotermy sorpcji

Wprowadzenie

W przemyśle spożywczym szeroko wykorzystywanymi substancjami pomocniczymi są hydrolizaty skrobi, które dzięki swoim właściwościom funkcjonalnym pozwalają na uzyskanie produktów spożywczych o odpowiednich cechach jakościowych.

Dr inż. T. Witczak, mgr inż. A. Stępień, dr hab. inż. M. Witczak, mgr inż. A. Bednarz, prof. dr hab. M. Grzesik, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, dr inż. K. Pycia, Katedra Ogólnej Technologii Żywności i Żywnienia Człowieka, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów. Kontakt: t.witczak@ur.krakow.pl

Zalicza się do nich maltodekstryny [24], które otrzymywane są głównie w wyniku częściowej enzymatycznej hydrolizy skrobi. W zależności od warunków prowadzenia procesu oraz formy natywnej biopolimeru uzyskuje się produkty o różnym stopniu hydrolizy, przy czym ich równoważnik glukozowy DE przyjmuje wartość niższą od 20. Stanowią one mieszaninę węglowodanów wysoko- i niskocząsteczkowych, w wyniku czego nawet przy identycznej wartości DE mogą charakteryzować się odmiennymi właściwościami fizycznymi [22, 26]. Maltodekstryny o wysokiej wartości równoważnika glukozowego cechuje m.in. dobra rozpuszczalność, higroskopijność oraz duża słodkość, przy jednoczesnym zmniejszeniu lepkości roztworów z ich udziałem i obniżeniu punktu zamarzania. Wykorzystywane są jako środki zagęszczające, wypełniające, stabilizujące smak i zapach oraz substancje zapobiegające krystalizacji sacharozy w produktach wysoko słodzonych [27, 30].

Maltodekstryny odgrywają również ważną rolę jako substancje pomocnicze w mikrokapsułkowaniu metodą rozpyłową oraz w suszeniu rozpyłowym żywności o dużej zawartości cukrów prostych i kwasów organicznych [6, 11, 20]. Dzięki ich zastosowaniu możliwe jest wyeliminowanie licznych niekorzystnych zjawisk, które w dalszej kolejności wpływają na wydajność procesu oraz jakość produktu końcowego. Obecność maltodekstryn powoduje wzrost temperatury przemiany szklistej amorficznych proszków, co chroni je przed przemianami fizycznymi, których konsekwencją są zjawiska aglomeracji, zlepiania czy zbrylania. Produkty takie pozostają bardzo wrażliwe na zmiany temperatury i wilgotności względnej otoczenia, dlatego parametry te muszą być pod ciągłą kontrolą w trakcie transportu i przechowywania.

W przypadku artykułów spożywczych przewidywanie niekorzystnych przemian o charakterze fizycznym, chemicznym oraz mikrobiologicznym możliwe jest na podstawie znajomości stopnia dostępności wody. Jednym z narzędzi wykorzystywanych w tym celu są izotermie sorpcji, które w stałej temperaturze i przy stałym ciśnieniu całkowitym przedstawiają zależność pomiędzy ilością zaadsorbowanej wody i aktywnością wody [2]. Zjawisku adsorpcji pary wodnej w biopolimerach towarzyszą zmiany strukturalne matrycy związane z procesami pęcznienia, natomiast dostępność grup hydrofilowych w dużej mierze uzależniona jest od konformacji oraz budowy cząsteczek. Właściwości sorpcyjne skrobi uwarunkowane są występowaniem w ziarnach form amorficznych oraz krystalicznych. Struktury amorficzne w dużo większym stopniu wykazują skłonności do pochłaniania cząsteczek wody w stosunku do krystalicznych, dla których zjawisko to zachodzi jedynie na powierzchni kryształów. W miarę wzrostu aktywności wody następuje uplastycznienie struktur amorficznych, dzięki czemu grupy polarne stają się bardziej dostępne dla cząsteczek wody [3].

Izotermie adsorpcji wody uzyskane dla skrobi natywnej różnego pochodzenia botanicznego mają kształt sigmoidalny [3, 16, 23], charakterystyczny dla izoterm zaliczanych do typu II według klasyfikacji Brunauera i wsp. [4]. Taki sam mechanizm

wiązania wody wykazują skrobie poddane modyfikacji chemicznej [9, 18], przy czym, jak stwierdzili Fornal i wsp. [9], proces modyfikacji prowadzi do zwiększenia ich higroskopijności w porównaniu ze skrobią natywną.

Właściwości sorpcyjne maltodekstryn związane są ze stopniem scukrzenia, niezależnie jednak od wartości DE ich izotermy mają przebieg sigmoidalny, charakterystyczny dla biopolimerów [17, 25, 28]. Uzyskany w wyniku hydrolizy skrobi wzrost udziału grup hydroksylowych powoduje zwiększenie higroskopijności maltodekstryn. Największe różnice występują przy wysokich wartościach aktywności wody, kiedy to rozpoczynają się zjawiska rozpuszczania węglowodanów o niższej masie cząsteczkowej [17, 28]. Castri i wsp. [7] porównali pięć maltodekstryn różniących się stopniem scukrzenia i wykazali, że maltodekstryna o najniższej wartości równoważnika glukozowego miała przebieg izotermy zbliżony do typu III według klasyfikacji Brunauera i wsp. [4]. Przypadek ten charakteryzuje się brakiem wyraźnie zaznaczonego obszaru adsorpcji monowarstwowej, co świadczy o zmianie mechanizmu pochłaniania wody. Maltodekstryna ta wykazała również najwyższą higroskopijność przy aktywności wody większej od 0,8. Dowodzi to, że jednoznaczne określenie zmiany struktury skrobi oraz stopnia jej degradacji zarówno w procesach hydrolizy enzymatycznej, jak i innych modyfikacji, jest skomplikowane, co utrudnia przewidywanie ich właściwości fizykochemicznych.

Właściwości sorpcyjne skrobi natywnej i modyfikowanej oraz maltodekstryn o różnym stopniu scukrzenia zostały szeroko omówione w literaturze przedmiotu [3, 9, 18, 17, 25, 28]. Brak jest natomiast informacji na temat zdolności sorpcji pary wodnej przez hydrolizaty skrobi modyfikowanej.

Celem niniejszej pracy było wyznaczenie izoterm sorpcji pary wodnej przez maltodekstryny uzyskane ze skrobi ziemniaczanej natywnej oraz skrobi ziemniaczanej stabilizowanej i sieciowanej. Mając na uwadze, że materiały te łączą w sobie właściwości skrobi i cukrów, w ramach badań podjęto próbę określenia wpływu rodzaju modyfikacji materiału pierwotnego oraz stopnia scukrzenia hydrolizatów na ich właściwości sorpcyjne.

Materiał i metody badań

W badaniach użyto hydrolizatów skrobi ziemniaczanej (SZ), skrobi acetylowanej (E1420) oraz fosforanu diskrobiowego (E1412) o trzech różnych wartościach równoważnika glukozowego DE: 6, 11 i 16. Materiałem wyjściowym były handlowe preparaty pochodzące z Wielkopolskiego Przedsiębiorstwa Przemysłu Ziemniaczanego S.A. w Luboniu. Reakcję hydrolizy prowadzono w reaktorze okresowym w temp. 85 °C, wykorzystując enzym amylolityczny o handlowej nazwie BAN 480L (Novozymes, Dania). Czas reakcji niezbędny do uzyskania żądanej wartości równoważnika glukozowego wyznaczony został eksperymentalnie dla każdego rodzaju skrobi [21]. W dal-

szej kolejności hydrolizaty rozlewano do szalek Petriego i zamrażano w temp. -12°C w ciągu 24 h. Tak przygotowane preparaty poddawano suszeniu sublimacyjnemu w liofilizatorze typu Alpha 1-2LD plus Christ (Wielka Brytania) przy ciśnieniu 7 Pa (21 h), a następnie dosuszano przez 1,5 h. Wyszuszony hydrolizat po rozdrobnieniu w moździerzu przesiewano przez sita o średnicy $200\text{ }\mu\text{m}$, a następnie przechowywano przez dwa tygodnie w eksykatorze nad P_2O_5 w celu dosuszenia.

Do wyznaczenia izoterm sorpcji zastosowano metodę statyczno-eksykatorową. Odważoną masę proszków (ok. 1 g) przetrzymywano w szczelnych naczyniach nad nasyconymi roztworami soli (jako czynnikami higrostatycznymi) w środowisku o wilgotności względnej $0,113 \div 0,903$. W celu ochrony próbek przed rozwojem mikroorganizmów w eksykatorach o aktywności wody powyżej 0,75 umieszczano tymol. Próbkę przechowywano w temp. 25°C aż do ustalenia się stanu równowagi (ok. 6 tygodni), stwierdzonego na podstawie niezmienniej masy podczas pomiarów kontrolnych. Badania wykonano w trzech powtórzeniach.

Dane eksperymentalne aproksymowano za pomocą trzech modeli matematycznych:

- BET [5]:
$$u = \frac{u_m \cdot C \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot a_w)}$$
- GAB [1, 8, 12]:
$$u = \frac{u_m \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)}$$
- Peleg [19]:
$$u = A \cdot a_w^D + B \cdot a_w^E$$

gdzie: A, B, C, D, E, k – parametry modeli, a_w – aktywność wody, u – wyznaczona eksperymentalnie wilgotność równowagowa (g/g s.s.) u_m – zawartość wody w monowarstwie (g/g s.s.)

Obliczenia wykonano z użyciem modułu estymacji nieliniowej programu Statistica 9.0. (Statsoft, Inc., USA) z wykorzystaniem algorytmu Levenberga-Marquardta. Dopasowanie zastosowanych modeli do danych eksperymentalnych oceniono na podstawie wartości współczynnika determinacji R^2 i średniego błędu kwadratowego (RMS) [10].

W celu oceny wpływu stopnia hydrolizy oraz rodzaju modyfikacji chemicznej skrobi na parametry równań opisujących izotery sorpcji stosowano analizę wariancji dla efektów głównych na poziomie istotności równym 0,05.

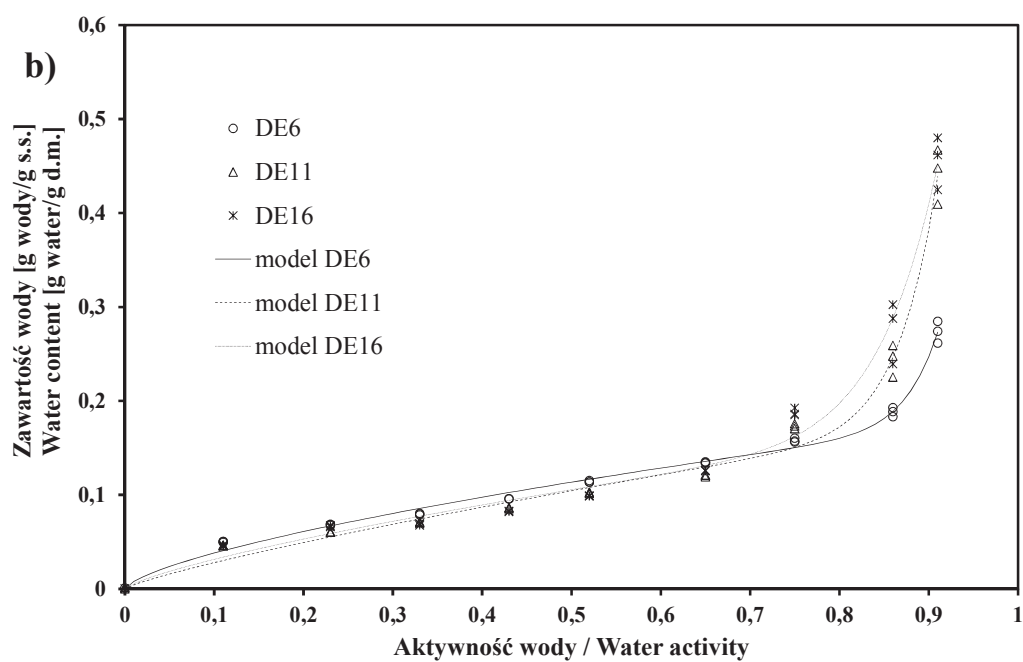
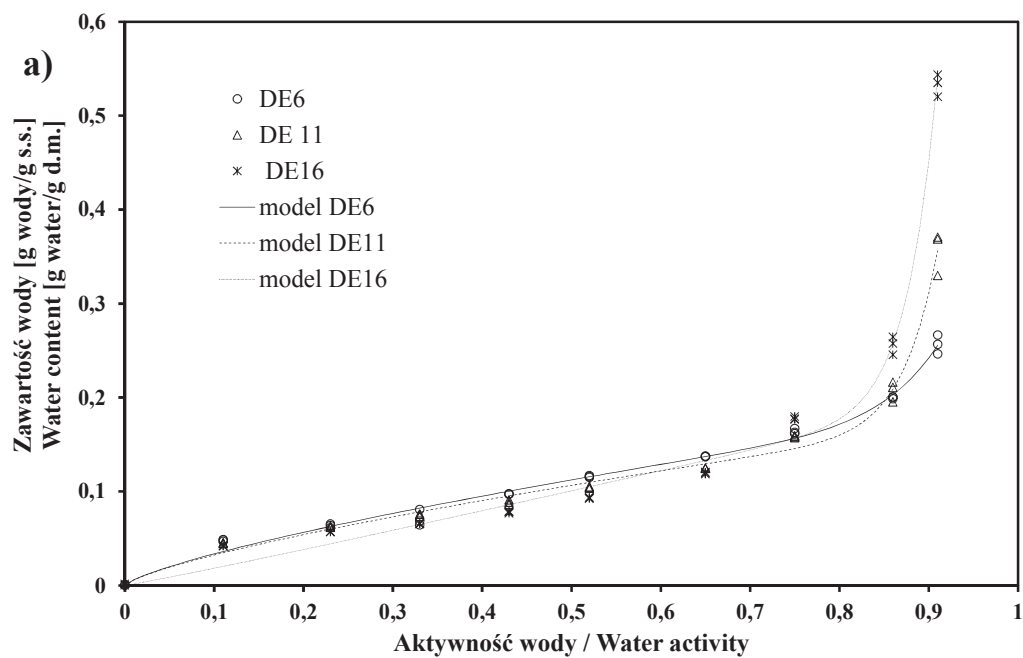
Wyniki i dyskusja

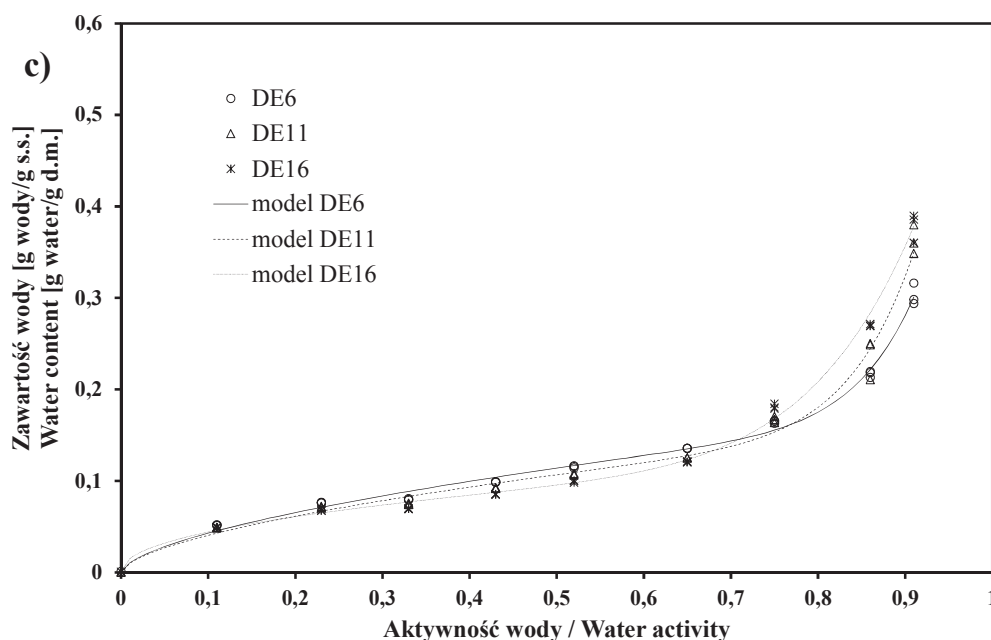
Izoterm sorpcji pary wodnej przez hydrolizaty skrobiowe przedstawiono na rys. 1. Uzyskane krzywe miały sigmoidalny kształt odpowiadający typowi II izoterm według klasyfikacji Brunauera i wsp. [4]. Sigmoidalny przebieg izoterm, charakterystyczny dla amorficznych materiałów białkowych i skrobiowych, wiąże się z występowaniem

niem trzech zakresów adsorpcji: monomolekularnej ($a_w < 0,3$), wielowarstwowej ($0,3 < a_w < 0,7$) i kondensacji kapilarnej ($a_w > 0,7$). Niezależnie od rodzaju pierwotnej modyfikacji hydrolizaty o najniższym stopniu hydrolizy DE 6 charakteryzowały się najwyższymi wartościami równowagowej zawartości wilgoci w obszarze pierwszego i drugiego zakresu adsorpcji. Przy aktywności wody ok. 0,7, w punkcie przegięcia krzywych, zaobserwowano odwrócenie tendencji do chłonięcia wilgoci, w rezultacie czego w ostatnim zakresie a_w najwyższą higroskopijność wykazywały proszki o najwyższej wartości DE. Wzrost równowagowej zawartości wody wraz ze stopniem scukrzenia maltodekstryny potwierdzają badania Saavedra-Leos i wsp. [26], Roosa [25] oraz Sępień i wsp. [28]. Najbardziej zauważalny wpływ stopnia hydrolizy na właściwości sorpcyjne przy $a_w > 0,7$ odnotowano w przypadku maltodekstryn uzyskanych ze skrobi ziemniaczanej natywnej.

Zaobserwowano, że niezależnie od stopnia hydrolizy równowagowa zawartość wody badanych proszków w I i II zakresie adsorpcji była zbliżona, a największą higroskopijność wykazała maltodekstryna na bazie skrobi ziemniaczanej natywnej (rys. 1). Istotne różnice pod względem ilości zaadsorbowanej wody odnotowano przy aktywności wody większej od 0,8. W przypadkach najniższego stopnia scukrzenia w III zakresie adsorpcji największą higroskopijność wykazał hydrolizat fosforanu diskrobiowego (E1420) (rys. 1). Maltodekstryny o niskim stopniu scukrzenia w dużej mierze zachowują właściwości materiału pierwotnego. Usieciowane cząsteczki fosforanu diskrobiowego wykazują duże powinowactwo do wiązania wody [14], można zatem przyjąć, że cecha ta została zachowana przy niskim stopniu hydrolizy tej skrobi. Takie właściwości wykazał hydrolizat skrobi acetylowanej (E1420) o DE 11, natomiast w przypadku hydrolizatów o DE16 największą równowagową zawartością wody charakteryzowały się produkty otrzymane na bazie skrobi natywnej. Uzyskane wyniki wskazują, że w następstwie przeprowadzonej hydrolizy omawianych skrobi otrzymano mieszaninę produktów o różnym składzie cukrowym, który zależał od czasu prowadzenia reakcji hydrolizy oraz rodzaju chemicznej modyfikacji skrobi [22]. Maltodekstryny, które wykazały największą równowagową zawartość wilgoci przy aktywności wody powyżej 0,8, musiały zatem w swoim składzie zawierać najwięcej cukrów niskocząsteczkowych [10].

Izotermy sorpcji pary wodnej opisane zostały za pomocą trzech modeli matematycznych: BET, GAB i Pelega. Wyznaczone wartości parametrów wraz z obliczonymi wartościami współczynnika determinacji i średniego błędu kwadratowego przedstawiono w tab. 1. W pełnym badanym zakresie a_w do przedstawienia danych sorpcyjnych zastosowano model Pelega, a uzyskane wartości wykładników potwierdzają sigmoidalny przebieg izoterm sorpcji [19].





Rys. 1. Wpływ stopnia skuczenia na właściwości sorpcyjne hydrolizatów skrobi: a) skrobia ziemniaczana natywna, b) skrobia modyfikowana E1412, c) skrobia modyfikowana E1420. Punkty doświadczalne i wyznaczone z modelu Pelega

Fig. 1. Effect of dextrose equivalent on sorption properties of starch hydrolysates: a) native potato starch; b) E1412 modified starch; c) E1420modified starch. Experimental points and points calculated from Peleg model

Zawartość wody w monowarstwie u_m , rozumiana jako ilość wilgoci silnie związanej w centrach aktywnych na powierzchni materiału, ma istotne znaczenie w przypadku przewidywania optymalnych warunków przechowywania. Według Karela [13] wartość u_m produktów spożywczych waha się w granicach $0,04 \div 0,11$ g wody na 1 g suchej substancji. Wartości u_m uzyskane przez badane próbki hydrolizatów skrobi mieściły się w tym przedziale. Zawartość wody w monowarstwie wyznaczona z modelu BET we wszystkich próbkach była nieznacznie niższa niż w przypadku zastosowania modelu GAB. Zróżnicowanie pojemności monowarstwy w zależności od użytego modelu związane jest z założeniami teorii adsorpcji. Według Timmermann i wsp. [29] wartość u_m wyznaczona na podstawie równania GAB jest zazwyczaj o ok. 15 % wyższa niż ta otrzymana z równania BET.

Zaobserwowano, że na zróżnicowanie pojemności monowarstwy znacząco wpływa stopień hydrolizy skrobi ($p = 0,003$), podczas gdy wpływ rodzaju modyfikacji chemicznej był statystycznie nieistotny ($p = 0,4$). Wszystkie badane proszki wykazywały zmniejszenie wartości u_m wraz ze wzrostem wartości DE.

Tabela 1. Parametry modeli sorpcyjnych hydrolizatów skrobi natywnej i modyfikowanej

Table 1. Parameters of sorption models for native and modified starch hydrolysates

Parametr Parameter	Rodzaj hydrolizatu / Type of hydrolysate								
	SZ DE6	SZ DE11	SZ DE16	E1412 DE6	E1412 DE11	E1412 DE16	E1420 DE6	E1420 DE11	E1420 DE16
PELEG									
A	0,321	1,770	4,295	1,094	1,874	1,069	0,499	0,648	0,538
B	14,77	23,66	26,50	25,08	20,62	13,99	13,70	12,61	7,89
D	0,189	0,178	0,210	0,182	0,184	0,178	0,174	0,162	0,129
E	0,749	0,740	1,057	0,679	0,820	0,753	0,607	0,602	0,464
R ²	0,9913	0,9911	0,9878	0,9938	0,9883	0,9843	0,9943	0,9901	0,9950
RMS	10,75	9,05	18,64	7,57	13,32	13,26	6,59	7,80	5,60
Zakres a _w a _w range	0 ÷ 0,903								
BET									
u _m	0,0570	0,0525	0,0460	0,0567	0,0499	0,0486	0,0575	0,0534	0,0489
C	20,77	28,76	40,92	31,80	32,52	63,22	42,69	49,71	116,33
R ²	0,9571	0,9928	0,9964	0,9970	0,9992	0,9628	0,9715	0,9696	0,9634
RMS	1,78	2,44	1,80	1,49	0,79	5,87	5,27	5,28	5,22
Zakres a _w a _w range	0 ÷ 0,529								
GAB									
u _m	0,0788	0,0627	0,0510	0,0788	0,0536	0,0523	0,0687	0,0576	0,0507
C	11,16	18,83	21,39	14,86	26,95	35,64	25,19	41,51	81,75
k	0,731	0,819	0,936	0,700	0,910	0,946	0,799	0,880	0,946
R ²	0,9886	0,9949	0,9932	0,9958	0,9893	0,9774	0,9957	0,9825	0,9945
RMS	3,77	2,26	3,78	3,32	3,77	6,14	3,63	5,39	5,02
Zakres a _w a _w range	0 ÷ 0,843								

Parametr k wyraża stopień interakcji cząsteczek wody znajdujących się w kolejnych warstwach z adsorbentem. Zgodnie z wynikami analizy Lewickiego [15] produkty o sigmoidalnym przebiegu izotermy powinny charakteryzować się parametrami modelu GAB: $0,24 < k < 1$ oraz $5,6 < C$, co gwarantuje, że wyznaczona pojemność monowarstwy będzie obciążona błędem mniejszym niż 15,5 %. Badane hydrolizaty spełniały powyższe założenie.

Wnioski

1. Izotermy sorpcji pary wodnej hydrolizatów skrobi ziemniaczanej natywnej, acetylowanej oraz fosforanu diskrobiowego charakteryzowały się sigmoidalnym kształtem, odpowiadającym typowi II izoterm zgodnie z klasyfikacją Brunauera i wsp.
2. W punkcie odpowiadającym aktywności wody powyżej 0,7 zaobserwowano wyraźne przegięcie otrzymanych izoterm, oznaczające moment przejścia z zakresu adsorpcji wielowarstwowej do obszaru kondensacji kapilarnej.
3. Zaobserwowano, że właściwości sorpcyjne badanych maltodekstryn zależały głównie od stopnia scukrzenia. Najwyższą higroskopijnością charakteryzowały się hydrolizaty o najwyższej wartości równoważnika glukozowego.
4. Chemiczna modyfikacja skrobi w nieznaczny stopniu wpłynęła na ilość zaadsorbowanej pary wodnej przez hydrolizaty o takim samym DE w I i II zakresie adsorpcji. W środowisku o wysokiej aktywności wody różnice te były znacznie większe.
5. Wartości pojemności monowarstwy wyznaczone z modelu BET były nieznacznie niższe od wartości wyznaczonych z modelu GAB. Niezależnie od rodzaju skrobi poddanej hydrolizie największą pojemność monowarstwy stwierdzono w przypadku maltodekstryn o DE6.
6. Model Pelega umożliwił opisanie danych eksperymentalnych w pełnym badanym zakresie aktywności wody $0,113 \div 0,903$.

Badania sfinansowano z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

- [1] Anderson R.B.: Modifications of the B.E.T. equation. J. Am. Chem. Soc., 1946, 68, 686-691.
- [2] Al-Muhtaseb A.H., McMinn W.A.M., Magee T.R.A.: Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. Food Bioprod. Process., 2002, 80 (2), 118-128.
- [3] Al-Muhtaseb A.H., McMinn W.A.M., Magee T.R.A.: Water sorption isotherm of starch powders. Part 1: Mathematical description of experimental data. J. Food Eng., 2004, 61, 297-307.
- [4] Brunauer S., Deming L.S., Deming W.E., Troller E.: On the theory of Van der Waals adsorption gases. J. Am. Chem. Soc., 1940, 62, 1723-1732.
- [5] Brunauer S., Emmett P., Teller E.: Adsorption of gases in multimolecular layers. J. Am. Chem. Soc., 1938, 60, 309-319.
- [6] Busch V.M., Pereyra-Gonzalez A., Šegatin N., Santagapita P.R., Ulrih N.P., Buera M.P.: Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. LWT-Food Sci. Technol., 2017, 75, 227-235.
- [7] Castro N., Durrieu V., Raynaud C., Rouilly A.: Influence of DE-value on the physicochemical properties of maltodextrin for melt extrusion processes. Carbohydr. Polym., 2016, 144, 464-473.
- [8] De Boer J.H.: The Dynamical Character of Adsorption. Clarendon Press, Oxford 1953.
- [9] Fornal J., Sadowska J., Błaszczak W., Jeliński T., Stasiak M., Molenda M., Hajnos M.: Influence of some chemical modifications on the characteristics of potato starch powders. J. Food Eng., 2012, 108 (4), 515-522.

- [10] Gondek E., Lewicki P.P.: Izotermie sorpcji pary wodnej suszonych i kandyzowanych owoców. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, 4 (1), 63-71.
- [11] Goula A.M., Adamopoulos K.G.: A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, 11 (2), 342-351.
- [12] Guggenheim E.A.: *Applications of Statistical Mechanics*. Clarendon Press, Oxford 1966.
- [13] Karel M.: Water activity and food perservation. In.: *Principles and Food Science. Part 2: Physical Principles of Food Perservation*. Eds. M. Karel, O.R. Fennema, D.B. Lund. Marcel Dekker, Inc., New York 1975, pp. 237-263.
- [14] Leszczyński W.: Zastosowanie skrobi modyfikowanych w przemyśle spożywczym II. Skrobie chemicznie modyfikowane. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2006, 6 (55), 6-8.
- [15] Lewicki P.P.: The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1997, 32, 553-557.
- [16] Mishra S., Rai T.: Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocoll.*, 2006, 20 (5), 557-566.
- [17] Mosquera L.H., Moraga G., Martínez-Navarrete N.: Effect of maltodextrin on the stability of freeze-dried borojó (*Borojoa patinoi* Cuatrec.) powder. *J. Food Eng.*, 2010, 97 (1), 72-78.
- [18] Pałacha Z., Chrzanowski P.: Badanie procesu adsorpcji i desorpcji wody wybranych skrobi. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2013, 1, 58-63.
- [19] Peleg M.: Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms. *J. Food Eng.*, 1993, 16, 21-37.
- [20] Phisut N.: Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *Int. Food Res. J.*, 2012, 19 (4), 1297-1306.
- [21] Pycia K., Juszczak L., Gałkowska D., Witczak M., Jaworska G.: Maltodextrins from chemically modified starches. Selected physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.*, 2016, 146, 301-309.
- [22] Pycia K., Juszczak L., Socha R.: Maltodextrins from chemically modified starches. Production and characteristics. *Starch-Stärke*, 2017, doi:10.1002/star.201600199.
- [23] Resio A.C., Aguerre R.J., Suarez C.: Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. *J. Food Eng.*, 1999, 42 (1), 51-57.
- [24] Roller S.: Starch-derived Fat Mimetics: Maltodextrins. *Handbook of Fat Replacers*. CRC Press, New York 1996, pp. 99-118.
- [25] Roos Y.: Characterization of food polymers using state diagrams. *J. Food Eng.*, 1995, 24 (3), 339-360.
- [26] Saavedra-Leos Z., Leyva-Porras C., Araujo-Diaz S., Toxqui-Teran A., Borrás-Enriquez A.: Technological application of maltodextrin according to the degree of polymerization. *Molecules*, 2015, 20, 21067-21081.
- [27] Sobolewska-Zielińska J.: Maltodekstryny w przemyśle spożywczym. *Laboratorium*, 2007, 6, 29-32.
- [28] Stępień A., Witczak M., Witczak T., Czader M.: Izotermie sorpcji maltodekstryny przemysłowej o różnym stopniu scukrzenia. *Post. Techn. Przem. Spoż.*, 2015, 2, 51-56.
- [29] Timmermann E.O.: Multilayer sorption parameters: BET or GAB values? *Colloid Surf. A – Physicochem. Eng. Asp.*, 2003, 1-3, 235-260.
- [30] Wang Y.J., Wang L.: Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. *Starch-Stärke*, 2000, 52 (8-9), 296-304.

EFFECT OF CHEMICAL MODIFICATION OF STARCH AND DEGREE OF HYDROLISIS ON MOISTURE SORPTION ISOTHERMS OF HYDROLYSATES

S u m m a r y

In the research study, the moisture sorption isotherms were determined for the hydrolysates obtained by the enzymatic hydrolysis of native potato starch, acetylated potato starch, and distarch phosphate. Furthermore, the effect was determined of the dextrose equivalent values obtained (DE 6, 11, 16) on the

hygroscopicity of products. The sorption isotherms were determined using a static method in the environment, where water activity ranged from 0 to 0.903 at a temperature of 25 °C. Three mathematical models were applied to describe sorption isotherms. It was found that the four-parameters Peleg's model made it possible to present the experimental data within the full range of water activity while the use of the BET and GAB models required to limit those data. All the plotted curves were characterized by a sigmoidal shape, typical for isotherms of type II according to the classification by Brunauer et al. [4]. In mono- and multilayer adsorption regions, all the hydrolysates analysed exhibited similar properties. The highest differences in the equilibrium moisture content were reported at a water activity higher than 0.7. It was found that the sorption properties of the products investigated were determined mainly by the dextrose equivalent values, while the chemical modification of starch significantly impacted the content of adsorbed moisture only in the high water activity environment.

Key words: maltodextrins, dextrose equivalent, modified starch, sorption isotherm 

MAŁGORZATA PIECYK, ELWIRA WOROBIEJ, JUSTYNA TUROS,
EWA OSTROWSKA-LIGEŻA

WŁAŚCIWOŚCI I STRAWNOŚĆ *IN VITRO* SKROBI GRYCZANEJ W PORÓWNANIU ZE SKROBIĄ PSZENNĄ

Streszczenie

Produkty z udziałem mąki gryczanej charakteryzują się dobrą wartością odżywczą i obecnością składników o działaniu prozdrowotnym, w tym niskim indeksem glikemicznym. Cechy te mogą być przydatne w projektowaniu nowych produktów z udziałem ziarniaków gryki. Celem pracy było porównanie wybranych właściwości wyizolowanej skrobi z gryki z właściwościami mąki gryczanej oraz skrobi pszennej.

Wykazano, że ze względu na ponad 10-krotnie mniejszą wielkość ziarenek skrobi gryczanej w stosunku do skrobi pszennej ich właściwości znacznie się różnią, pomimo że obie mają ten sam typ struktury polimorficznej i podobną zawartość amylozy. Skrobia gryczana charakteryzowała się większą temperaturą i entalpią przemiany kleikowania niż skrobia pszena. W przypadku mąki gryczanej obserwowano jeszcze większe wartości temperatury przemiany kleikowania oraz niskie wartości siły pęcznienia i zdolności rozpuszczania amylozy, co wynika prawdopodobnie z obecności białek na powierzchni ziarenek skrobi. Te właściwości wpłynęły na podatność skrobi na trawienie. Skrobia w mące gryczanej (surowej) charakteryzowała się dużym udziałem frakcji odpornej (RS), ale po wyizolowaniu skrobi z mąki udział RS był znikomy – mniejszy niż w skrobi pszennej. Po gotowaniu udział skrobi szybko trawionej w mące i w wyizolowanej skrobi był na zbliżonym poziomie. Po skleikowaniu udział RS był większy w skrobi gryczanej niż w pszennej, co wskazuje na większą podatność tej skrobi na retrogradację.

Słowa kluczowe: mąka gryczana, skrobia gryczana i pszena, skrobia oporna (RS), pęcznienie skrobi, rozpuszczalność amylozy

Wprowadzenie

Obserwowane zainteresowanie ziarniakami gryki i produktami z nich otrzymanymi wynika z ich dobrej wartości odżywczej oraz obecności substancji o właściwo-

*Dr hab. M. Piecyk, dr inż. E. Worobiej, mgr inż. J. Turows, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, dr hab. E. Ostrowska-Ligeża, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.
Kontakt: malgorzata_piecyk@sggw.pl*

ściach prozdrowotnych. Główne składniki ziarniaków gryki, tj. sacharydy i białka charakteryzują się korzystniejszymi właściwościami w porównaniu ze zbożami, a wśród związków bioaktywnych czy balastowych wymienić można błonnik pokarmowy [8, 24]. Podkreślenia wymagają również związki o właściwościach przeciwutleniających – głównie związki fenolowe, zwłaszcza flawonoidy, takie jak rutyna i katechiny [25] oraz lignany działające podobnie do fitoestrogenów [26], a także inne związki, jak sterole [9].

Ze względu na cenny skład ziarniaków gryki rozszerzono ofertę produktów z ich udziałem, zwłaszcza że mogą być wykorzystywane w diecie bezglutenowej. Obok tradycyjnie spożywanych produktów, jak kasza nieprażona oraz prażona, pojawiły się na rynku takie produkty, jak: mąka, płatki gryczane, kasza gryczana instant, kasza błyskawiczna czy kawa. Coraz częściej gryka jest również składnikiem złożonych produktów, jak makarony czy chleb.

Dominującym składnikiem sacharydowym decydującym o właściwościach technologicznych gryki jest skrobia, której zawartość w ziarniaku wynosi $59 \div 77$ % w suchej masie [23, 24], a w mące nawet do 81 % [10]. O właściwościach technologicznych skrobi decyduje przede wszystkim stosunek jej głównych komponentów, tj. amylozy i amylopektyny, jej struktura polimorficzna, wielkość ziarenek oraz obecność substancji towarzyszących. Jedną z cech przypisywanych produktom z ziarniaków gryki jest to, że skrobia w niej zawarta ulega wolniejszej hydrolizie niż skrobia pszena, powodując obniżenie indeksu glikemicznego produktów z udziałem mąki gryczanej [14]. Produkty te zawierają również większą ilość skrobi odpornej niż analogiczne produkty zawierające tylko mąkę pszenną [20, 21]. Interesujące jest, czy te właściwości skrobi gryczanej są wynikiem jej struktury czy raczej wynikają z obecności innych składników zawartych w mące. Taka wiedza może być przydatna w projektowaniu nowych produktów z udziałem komponentów otrzymanych z gryki.

Celem pracy było określenie wybranych właściwości skrobi gryczanej wyodrębnionej z mąki w porównaniu ze skrobią pszenną oraz z właściwościami skrobi zawartej w mące gryczanej.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły całe ziarniaki gryki (*Fagopyrum sagittum*), które zmielono, przesiano przez sito (0,250 mm) i otrzymano mąkę. Do izolacji skrobi zastosowano metodę na mokro, w której prowadzono przez 12 h ekstrakcję składników rozpuszczalnych po zmieszaniu mąki z wodą w stosunku 1 : 10, a następnie po przelaniu zawiesiny przez sito i odwirowaniu ekstrahowano ponownie NaOH o stężeniu $0,02 \text{ mol/dm}^3$. Otrzymany osad mieszano trzykrotnie z wodą za każdym razem odwirowując zawiesinę, po czym suszono w temp. 45°C , mielono i przesiewano przez sito

(0,090 mm). Materiałem porównawczym była handlowa skrobia pszenna firmy Roquette (Francja) (PS).

Do badania morfologii ziarenek skrobi gryczanej i skrobi pszennej stosowano obserwacje pod mikroskopem skaningowym (Hitachi S-4200, Japonia) przy powiększeniu 3000x, stosując napięcie przyspieszające 10 kV. W celu uniknięcia uszkodzeń przez wiązkę elektronów po naklejeniu skrobi na metalowe krążki napyłano ją złotem w napyłarce Jeol, typ JFC-1300. Badania podstawowego składu chemicznego mąki i skrobi obejmowały oznaczenia metodami standardowymi zawartości wody, popiołu i białka [32]. Zawartość amylozy w skrobi oznaczano metodą spektrofotometryczną Williamsa i wsp. [30].

Badanie struktury krystalicznej skrobi gryczanej i pszennej prowadzono metodą dyfrakcji promieni Roentgena (X-ray) w aparacie D8 Discover (Bruker Co., USA). Warunki pomiaru były następujące: lampa rentgenowska Cu K α (filtr Ni), napięcie – 40 kV, natężenie prądu – 40 mA, skanowanie przy kącie odbłyску – 2 θ w zakresie 2 $\div$ 30° z prędkością 1,0 °/min. W celu wyeliminowania wahań krystaliczności względnej preparatów wywołanej różnicami w ich wilgotności badane próbki skrobi kondycjonowano w atmosferze o wilgotności względnej 92 % w ciągu 48 h.

Analizy kleikowania skrobi prowadzono w skaningowym kalorymetrze różnicowym (DSC, TA Instruments Q 200) według Piecyk i wsp. [17]. Z termogramów kleikowania skrobi wyznaczano temperatury: początku przemiany fazowej (T_o , °C), maksimum endotermii (T_p , °C) i końcową przemiany (T_k , °C) oraz entalpię przemiany (ΔH , J/g s.m.). Ponadto obliczano zakres temperatur przemiany ($T_k - T_o$) oraz indeks wzrostu piku PHI (ang. *peak height index*) jako stosunek $\Delta H / T_p - T_o$ [11].

Badania pęcznienia skrobi i zdolności rozpuszczania amylozy prowadzono w temp. 55, 65, 75 i 85 °C metodą Leacha i wsp. [12] w modyfikacji Piecyk i wsp. [17].

Strawność *in vitro* skrobi w próbkach natywnych i po skleikowaniu skrobi oznaczano metodą Englysta i wsp. [6] w modyfikacji Chunga i wsp. [4]. W celu skleikowania skrobi przygotowane jej 5-procentowe wodne zawiesiny ogrzewano ($t = 95$ °C, 30 min), a następnie chłodzono do temp. 37 °C, po czym dodawano bufor octanowy (0,5 mol/dm³; pH 5,2) i mieszaninę enzymów. Próbki natywne i skleikowane trawiono mieszaniną enzymów, pobierano po 20 i 120 min tego procesu 100 μ l mieszaniny, w której oznaczano ilość uwolnionej glukozy testem enzymatycznym (K-GLUC, Megazyme). Do opisu strawności skrobi wyznaczano ilość skrobi szybko trawionej (RDS) zhydrolizowanej po 20 min, a wolno trawionej (SDS) między 20. a 120. min hydrolizy. Ilość skrobi odpornej (RS) stanowiła różnicę między skrobią całkowitą (TS) oznaczoną testem enzymatycznym (K-TSTA, Megazyme) a skrobią strawioną po 120 min hydrolizy.

Otrzymane wyniki z trzech powtórzeń przedstawiono jako wartości średnie i przeanalizowano przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji. Istotność różnic

między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana przy poziomie istotności $p = 0,05$. Obliczenia wykonano w programie Statistica v. 10.0.

Wyniki i dyskusja

W badaniach składu chemicznego mąki gryczanej (tab. 1) wykazano, że nie odbiegał on od danych literaturowych. Według tych danych zawartość białka i skrobi mieści się w zakresach odpowiednio: $6,8 \div 14,0$ % i $65,6 \div 80,7$ % [10, 19], a popiołu – w zakresie $1,33 \div 2,60$ % [19].

Tabela 1. Skład chemiczny mąki gryczanej

Table 1. Chemical composition of buckwheat flour

Wilgotność Moisture [%]	Zawartość popiołu Content of ash [% s.m. / d.m.]	Zawartość białka Content of protein [% s.m. / d.m.]	Zawartość skrobi Content of starch [% s.m. / d.m.]
$8,3 \pm 0,3$	$1,40 \pm 0,03$	$9,8 \pm 0,3$	$75,2 \pm 0,5$

Tabela 2. Skład chemiczny skrobi wyizolowanej z gryki i handlowej skrobi pszennej

Table 2. Chemical composition of starch isolated from buckwheat and of commercial wheat starch

Próbka Sample	Wilgotność Moisture [%]	Zawartość popiołu Content of ash [% s.m. / d.m.]	Zawartość białka Content of protein [% s.m. / d.m.]	Zawartość amylozy Content of amylose [% s.m. / d.m.]
Skrobia gryczana Buckwheat starch	$11,1^a \pm 0,2$	$0,18 \pm 0,02$	$0,48^b \pm 0,02$	$21,7^a \pm 0,2$
Skrobia pszenna Wheat starch	$12,8^b \pm 0,1$	$< 0,40^*$	$0,24^a \pm 0,02$	$23,7^b \pm 0,1$

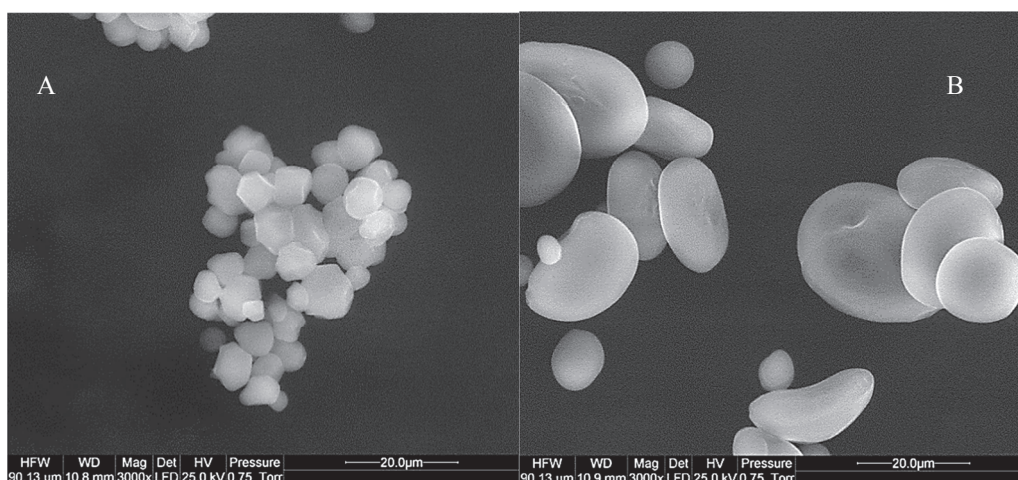
Objaśnienia / Explanatory notes:

* – specyfikacja producenta / producer's specification.

W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ odchylenia standardowe / Table shows mean values $\pm$ standard deviations. Wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami są statystycznie istotnie różne przy $p < 0,05$ / Values in columns and denoted by different letters are statistically significantly different at $p < 0.05$.

Wyizolowana skrobia charakteryzowała się zawartością białka na poziomie $0,48$ % (tab. 2). Jest to wartość zbliżona do danych literaturowych $0,3 \div 0,5$ % [11, 14], chociaż podawane są również większe wartości, np. $1,15$ % [3]. Tak duże różnice mogą być wynikiem nie tylko różnych warunków uprawy czy odmiany gryki, ale są uzależnione również od metody izolacji skrobi, która w przypadku skrobi o małych ziarenkach (fot. 1) jest trudna.

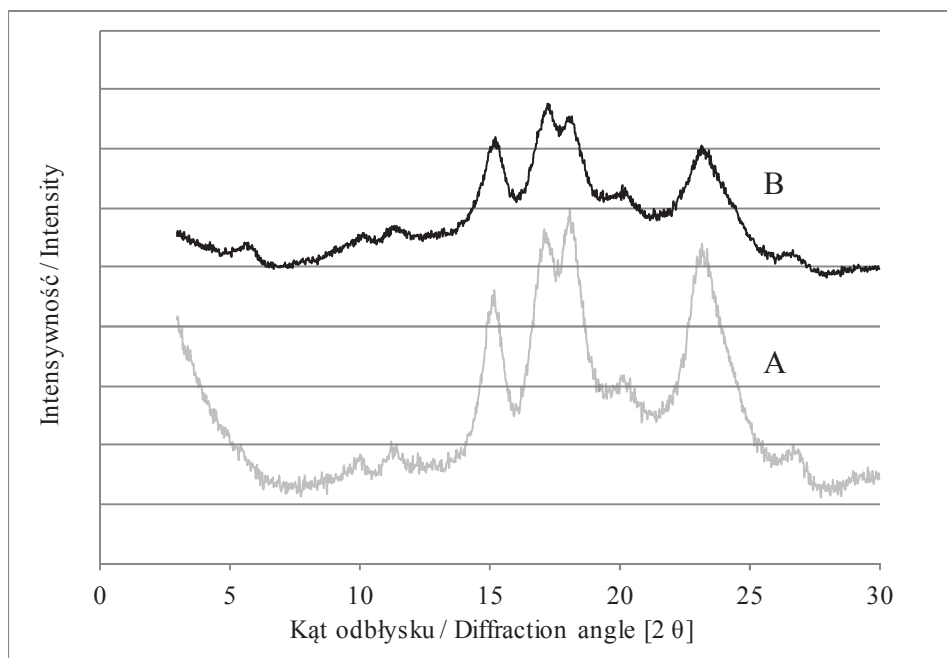
Oznaczona zawartość amylozy w skrobi gryczanej, wynosząca 21,7 %, mieści się w zakresie podawanym w literaturze, tj. $17,1 \div 29,1$ % [1, 19] i jest mniejsza od oznaczonej ilości w skrobi pszennej, tj. 23,7 % (tab. 2).



Fot. 1. Mikrofotografie SEM skrobi gryczanej (A) i skrobi pszennej (B)
Photo 1. Microphotographs (SEM) of buckwheat starch (A) and wheat starch (B)

Do badania typu krystaliczności i jej stopnia zastosowano metodę dyfrakcji promieni rentgenowskich (XRD). Analiza dyfraktogramów XRD skrobi z gryki i skrobi pszennej (rys. 1) pozwala na stwierdzenie, że obie skrobie wykazały dyfrakcję typową dla struktury polimorficznej typu A. Intensywne maksima dyfrakcyjne przy kącie odbłyску $17,0^\circ$ są typowe zarówno dla struktury typu B, jak i A, natomiast przy kącie odbłyску $17,9^\circ$ – tylko dla struktury A. Pojedynczy pik dyfrakcyjny przy kącie odbłyску $23,1^\circ$ zamiast dwóch pików przy kącie odbłyску 23° i 24° jest również typowy dla struktury A [28]. W badaniach przedstawionych w literaturze skrobia gryczana wykazywała typowe dyfraktogramy dla struktury polimorficznej typu A [7, 13].

W analizie mikroskopowej wykazano znaczące różnice w morfologii i wielkości ziarenek skrobi gryczanej i skrobi pszennej (fot. 1). Skrobia gryczana odznaczała się małymi ziarenkami, w większości o kształcie poligonalnym, podczas gdy wśród ziarenek skrobi pszennej o kształcie owalnym wyróżnić można było dwie populacje – ziarenka małych i dużych. Tylko pojedyncze ziarenka skrobi pszennej miały wielkość zbliżoną do ziarenek skrobi gryczanej, a większość była nawet 10 razy większa. Uzyskane wyniki obserwacji są zgodne z danymi zawartymi w literaturze, w których kształt skrobi gryczanej opisywany jest jako poligonalny, ale występują również ziarenka owalne i kuliste, a podawany zakres wielkości ziarenek skrobi gryczanej wynosi zazwyczaj $2 \div 10$ µm [7, 13, 18].



Rys. 1. Dyfraktogramy skrobi gryczanej i (A) i skrobi pszennej (B)

Fig. 1. X-ray diffraction patterns of buckwheat (A) and wheat (B) starches

Izolacja skrobi z mąki wpłynęła na właściwości termiczne skrobi, tj. zmniejszyły się temperatury przemiany, ale jej entalpia zwiększyła się (tab. 3). Należy wziąć pod uwagę, że białka tworzące otoczkę na powierzchni ziarenek skrobi znajdujących się w mące mogą utrudniać ich kleikowanie i dlatego temperatura przemiany w mące jest zazwyczaj wyższa niż w wyizolowanej skrobi [31]. Generalnie wyznaczone temperatury przemiany skrobi wyizolowanej z gryki są zgodne z danymi literaturowymi [16]. Porównując natomiast właściwości termiczne skrobi gryczanej i pszennej można zauważyć, że wielkość wszystkich parametrów wyznaczonych metodą DSC jest większa w przypadku skrobi gryczanej. Właściwości termiczne skrobi uwarunkowane są przede wszystkim wewnętrzną strukturą i wielkością jej ziarenek. O szybkości pęcznienia i kleikowania skrobi decydują m.in. oddziaływania między obszarami amorficznymi i krystalicznymi. Wartość PHI (indeks wzrostu piku) charakteryzuje kształt i stopień symetrii różnych endoterm zależnych właśnie od tego typu oddziaływań [11]. W niniejszych badaniach wielkość tego parametru wyznaczona dla obu skrobi nie różniła się istotnie. Kluczowym czynnikiem wydają się być różnice w wielkości ziarenek. Badania skrobi pszennej przeprowadzone przez Chiotelli i Le Meste [2] wykazały, że populacja małych ziarenek kleikowała w wyższej temperaturze i charakteryzowała się szerszym zakresem temperatur kleikowania niż populacja dużych ziarenek, co tłum-

czono słabszym uporządkowaniem łańcuchów polisacharydowych w ziarenkach mniejszych w porównaniu z większymi. Wskazywać na to może również szerszy zakres temperatury kleikowania skrobi gryczanej niż skrobi pszennej (tab. 3).

Tabela 3. Właściwości termiczne mąki i skrobi gryczanej oraz skrobi pszennej

Table 3. Thermal properties of buckwheat starch and flour, and wheat starch

Parametr Parameter	Mąka gryczana Buckwheat flour	Skrobia gryczana Buckwheat starch	Skrobia pszenna Wheat starch
T _o (°C)	63,5 ^c ± 0,5	60,3 ^b ± 0,1	51,9 ^a ± 0,2
T _p (°C)	69,7 ^c ± 0,1	66,2 ^b ± 0,4	56,0 ^a ± 0,2
T _c (°C)	78,0 ^b ± 1,0	78,0 ^b ± 0,7	66,4 ^a ± 0,0
ΔH (J/g)	8,8 ^a ± 0,4	13,9 ^c ± 0,4	0,9 ^b ± 0,4
T _c – T _o (°C)	14,6 ^a ± 1,5	17,8 ^b ± 0,6	14,5 ^a ± 0,2
PHI	1,42 ^a ± 0,03	2,36 ^b ± 0,10	2,64 ^b ± 0,21

Objaśnienia / Explanatory notes:

Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami są statystycznie istotnie różne przy $p < 0,05$. / Values in columns and denoted by different letters are statistically significantly different at $p < 0.05$. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2. / Other explanatory notes as in Tab. 2.

Obserwowane różnice we właściwościach termicznych skrobi gryczanej i skrobi pszennej znalazły odzwierciedlenie w ich pęcznieniu (SP) oraz rozpuszczalności amylozy (AML) (tab. 4). Skrobia pszenna w temp. 60 °C charakteryzowała się znacznie większą wartością SP oraz AML (odpowiednio: 9,0 g/g oraz 2,64 %) niż skrobia gryczana, w przypadku której wartości tych parametrów wynosiły odpowiednio: 3,4 g/g i 0,32 %, co wynika z jej niższych temperatur kleikowania. Skrobia pszenna charakteryzowała się początkową temperaturą kleikowania zdecydowanie niższą niż skrobia gryczana. Wynosiły one odpowiednio: 51,9 i 60,3 °C, dlatego w temp. 60 °C pęcznienie skrobi pszennej przebiegało szybciej. W temp. 90 °C zależność ta była odwrotna. Wartość SP skrobi gryczanej była o 60 % większa niż skrobi pszennej, ale w przypadku AML różnice te nie były tak duże. Podobne wyniki SP w badaniach skrobi gryczanej i pszennej otrzymali Acquistucci i Fornal [1].

Liu i wsp [14] wykazali, że w wyniku zastąpienia mąki pszennej mąką gryczaną w produktach takich, jak chleb następuje zmniejszenie ich indeksu glikemicznego. Aby sprawdzić, czy wynika to ze szczególnej struktury skrobi gryczanej, czy raczej z obecności innych składników, przeprowadzono badania strawności *in vitro* skrobi w mące gryczanej i po wyizolowaniu, zarówno natywnych, jak i skleikowanych (tab. 5). W mące natywnej udział frakcji skrobi szybko trawionej (RDS) w skrobi ogółem wynosił tylko 10,3 %, natomiast w wyodrębnionej skrobi gryczanej frakcja ta stanowiła 55,3 % i dominowała również nad skrobią pszenną (42,3 %).

Tabela 4. Zdolność pęcznienia i rozpuszczalność amylozy w skrobi gryczanej i pszennej

Table 4. Swelling power and amylose leaching of buckwheat and wheat starches

Cecha Feature	Temp. [°C]	Mąka gryczana Buckwheat flour	Skrobia gryczana Buckwheat starch	Skrobia pszenna Wheat starch
Pęcznienie Swelling power [g/g]	60	3,0 ^a ± 0,1	3,4 ^b ± 0,1	9,0 ^c ± 0,1
	70	6,3 ^a ± 0,1	16,6 ^c ± 0,6	9,9 ^b ± 0,1
	80	7,7 ^a ± 0,3	16,8 ^c ± 0,8	14,1 ^b ± 0,0
	90	9,9 ^a ± 0,0	22,8 ^c ± 0,3	14,2 ^b ± 0,1
Rozpuszczalność amylozy Amylose leaching [g/100 g]	60	0,08 ^a ± 0,01	0,32 ^b ± 0,00	2,64 ^c ± 0,06
	70	0,30 ^a ± 0,00	4,90 ^b ± 0,40	4,91 ^b ± 0,12
	80	0,94 ^a ± 0,03	5,11 ^b ± 0,35	8,24 ^c ± 0,13
	90	1,53 ^a ± 0,06	9,97 ^c ± 0,27	8,63 ^b ± 0,26

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Tabela 5. Udział skrobi: szybko trawionej (RDS), wolno trawionej (SDS) i odpornej (RS) [% skrobi całkowitej]

Table 5. Content of starches: Rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS), and resistant starch (RS) [% of total starch]

Produkt / Product		RDS	SDS	RS
Mąka gryczana Buckwheat flour	NG	10,3 ^a ± 0,1	44,5 ^c ± 0,4	45,2 ^d ± 0,3
	G	85,2 ^d ± 1,8	0,9 ^a ± 0,2	14,0 ^c ± 1,5
Skrobia gryczana Buckwheat starch	NG	55,3 ^c ± 0,6	44,0 ^c ± 1,0	0,7 ^a ± 0,4
	G	86,8 ^d ± 0,1	5,7 ^b ± 0,8	7,5 ^b ± 0,7
Skrobia pszenna Wheat starch	NG	42,3 ^b ± 1,2	50,5 ^d ± 0,5	7,3 ^b ± 0,8
	G	92,6 ^c ± 0,1	5,5 ^b ± 0,7	1,9 ^a ± 0,6

Objaśnienia / Explanatory notes:

NG – niegotowana / uncooked; G – gotowana / cooked; Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2. / Other explanatory notes as in Tab. 2.

Udział frakcji skrobi wolno trawionej (SDS) był na tym samym poziomie w mące i w skrobi gryczanej, a w skrobi pszennej – na nieznacznie wyższym. Największe różnice stwierdzono pod względem udziału skrobi odpornej, który w mące gryczanej wynosił 45,2 %, ale po wyodrębnieniu skrobi z ziarniaków gryki znacząco zmalał (0,7 %). Jak wykazano, skrobia gryczana charakteryzuje się tym samym typem polimorficznym struktury krystalicznej jak skrobia pszenna. Tego typu struktura jest bardziej podatna na hydrolizę niż skrobia o typie polimorficznym B, charakterystycznym dla skrobi ziemniaczanej [22]. Strawność skrobi determinowana jest nie tylko strukturą krystaliczną ziarenka, ale również jego wielkością. Przeprowadzone badania kinetyki hydro-

lizy skrobi o różnym pochodzeniu botanicznym wykazały, że stosunek powierzchni ziarenka skrobi do jego objętości jest jednym z najważniejszych wskaźników określających wielkość obszarów wiązania enzymów oraz ilość dostępnych wiązań glikozydowych [5]. Mniejsze ziarenka skrobi są trawione szybciej, dlatego większy udział skrobi gryczanej RDS niż skrobi pszennej RDS mógł być wynikiem różnic w wielkości tych ziarenek. Nie można również wykluczyć, że różnice te są efektem innego rozmieszczenia warstw krystalicznych i amorficznych w ziarenkach skrobi. Warren i wsp. [29] wykazali, że szybkość wiązania enzymów na powierzchni ziarenka skrobi jest uzależniona od udziału frakcji amorficznej w tym obszarze, tj. im większy jest jej udział tym szybsza hydroliza skrobi. Przeprowadzone badania właściwości termicznych wskazują na różnice w uporządkowaniu łańcuchów amylopektyny w skrobi pszennej i gryczanej.

Po gotowaniu wszystkich próbek udział RDS gwałtownie wzrósł do podobnego poziomu w mące i skrobi gryczanej (~86 %) i znacznie wyższego w skrobi pszennej (~93 %) przy jednoczesnym zmniejszeniu udziału SDS we wszystkich próbkach. Z kolei kierunek zmian udziału RS uzależniony był od rodzaju próbki – w mące gryczanej i skrobi pszennej wskutek gotowania nastąpiło zmniejszenie udziału frakcji odpornej, zaś zwiększenie odnotowano w skrobi gryczanej, choć nadal jej ilość była największa w mące gryczanej.

Różnice strawności skrobi w mące gryczanej i wyodrębnionej skrobi mogą być spowodowane tym, że składniki obecne w mące gryczanej mogą wchodzić w interakcje ze skrobią lub hamować działanie enzymów amylolitycznych. Podczas ogrzewania może dochodzić np. do interakcji między białkami a skrobią, co może powodować zmniejszenie jej strawności [27]. Ponadto według Takahama i Hirota [25] rutyna i galusan epigallokatechiny, które są obecne w znacznych ilościach w gryce, wiążą się z amylozą i amylopektyną, hamując działanie pankreatyny, chociaż badania kaszy gryczanej gotowanej przed i po wyekstrahowaniu polifenoli nie wykazały istotnych różnic pod względem ilości SDS i RS [21]. Stwierdzony wysoki udział RS w mące gryczanej może też być spowodowany tym, że małe ziarenka skrobi znajdują się w matrycy białkowej, co, jak wynika z analiz właściwości termicznych i pęcznienia skrobi, utrudnia ich kleikowanie. Może to wpływać na obecność w mące skrobi odpornej typu RS1. Wskazują na to badania kaszy gryczanej poddawanej różnym typom obróbki termicznej, po której stwierdzono różnice w udziale RS, ale ilość RS3 nie zmieniała się istotnie, więc różnice te nie były wynikiem retrogradacji skrobi [21]. Z kolei większy udział RS w skrobi gryczanej niż w pszennej może wynikać z ich różnej podatności na retrogradację. Z badań przeprowadzonych przez Mikulikovą i wsp. [15] wynika, że skrobia różnych zbóż charakteryzuje się różną podatnością na retrogradację. Największy udział RS3 w skrobi po obróbce termicznej stwierdzono w ryżu, a najmniejszy – w owsie.

Wnioski

1. Ze względu na ponad 10-krotnie mniejsze ziarenka skrobi gryczanej niż skrobi pszennej oraz prawdopodobieństwo różnic w uporządkowaniu łańcuchów polisacharydowych właściwości obu skrobi znacznie się różnią, pomimo takiego samego typu krystaliczności i podobnej zawartości amylozy. Skrobia gryczana wykazuje większą entalpię oraz temperatury przemiany niż skrobia pszenna.
2. Większe wartości temperatur kleikowania skrobi w mące gryczanej oraz niska wartość zdolności pęcznienia i rozpuszczania amylozy w porównaniu ze skrobią wyodrębnioną z mąki gryczanej wynikają prawdopodobnie z obecności białek na powierzchni ziarenek skrobi.
3. Proces izolacji skrobi z mąki gryczanej znacząco zmniejsza w niej udział frakcji skrobi odpornej, który jest mniejszy niż w skrobi pszennej. Po skleikowaniu skrobi następuje zwiększenie udziału tej frakcji w skrobi gryczanej w przeciwieństwie do skrobi pszennej, co może sugerować większą podatność ziarenek tej skrobi na retrogradację.

Literatura

- [1] Acquistucci R., Fornal J.: Italian buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) starch: Physico-chemical and functional characterization and *in vitro* digestibility. Food/Nahrung, 1997, 41 (5), 281-284.
- [2] Chiotelli E., Le Meste M.: Effect of small and large wheat starch granules on thermomechanical behavior of starch. Cereal Chem., 2002, 79 (2), 286-293.
- [3] Christa K., Soral-Smietana M., Lewandowicz G.: Buckwheat starch: Structure, functionality and enzyme *in vitro* susceptibility upon the roasting process. Int. J. Food Sci. Nutr., 2009, 60 (Suppl. 4), 140-154.
- [4] Chung H.J., Liu Q., Hoover R.: Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. Carbohydr. Polym., 2009, 75, 436-447.
- [5] Dhital S., Shrestha A.K., Gidley M.J.: Relationship between granule size and *in vitro* digestibility of maize and potato starches. Carbohydr. Polym., 2010, 82, 480-488.
- [6] Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H.: Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur. J. Clin. Nutr., 1992, 46, 33-50.
- [7] Gao J., Kreft I., Chao G., Wang Y., Liu X., Wang L., Wang P., Gao X., Feng B.: Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) starch, a side product in functional food production, as a potential source of retrograded starch. Food Chem., 2016, 190, 552-558.
- [8] Górecka D., Dziedzic K., Sell S.: Wpływ zabiegów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zawartość błonnika pokarmowego. Nauka, Przyroda, Technologie, 2010, 4 (2), 1-9.
- [9] Horbowicz M., Obendorf R.L.: Changes in sterols and fatty acids of buckwheat endosperm and embryo during seed development. J. Agric. Food Chem., 1992, 40 (5), 745-750.
- [10] Ikeda K., Kishida M., Kreft I., Yasumoto K.: Endogenous factors responsible for the textural characteristics of buckwheat products. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 1997, 43 (1), 101-111.
- [11] Krueger B.R., Walker C.E., Knutson C.A., Inglett G.E.: Differential scanning calorimetry of raw and annealed starch isolated from normal and mutant maize genotypes. Cereal Chem., 1987, 64, 187-190.
- [12] Leach H.W., McCowen L.D., Schoch T.J.: Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem., 1959, 36, 534-537.

- [13] Liu H., Lv M., Peng Q., Shan F., Wang M.: Physicochemical and textural properties of Tartary buckwheat starch after heat – moisture treatment at different moisture levels. *Starch/Stärke*, 2015, 67 (3/4), 276-284.
- [14] Liu W., Brennan M., Serventi L., Brennan C.: Buckwheat flour inclusion in Chinese steamed bread: Potential reduction in glycemic response and effects on dough quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2017, 5 (43), 727-734.
- [15] Mikulíková D., Benková M., Kraic J.: The potential of common cereals to form retrograded resistant starch. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 2006, 42 (3), 95-102.
- [16] Noda T., Takahata Y., Sato T., Suda I., Morishita T., Ishiguro K., Yamakawa O.: Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. *Carbohydr. Polym.*, 1998, 37 (2), 153-158.
- [17] Piecyk M., Drużyńska B., Worobiej E., Wołosiak R., Ostrowska- Ligeża E.: Effect of hydrothermal treatment of runner bean (*Phaseolus coccineus*) seeds and starch isolation on starch digestibility. *Food Res. Int.*, 2013, 50, 428-437.
- [18] Qian J., Kuhn M.: Physical properties of buckwheat starches from various origins. *Starch/Stärke*, 1999, 51 (2/3), 81-85.
- [19] Qin P., Wang Q., Shan F., Hou Z., Ren G.: Nutritional composition and flavonoids content of flour from different buckwheat cultivars. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2010, 45 (5), 951-958.
- [20] Skrabanja V., Laerke H.N., Kreft I.: Effects of hydrothermal processing of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats on starch enzymatic availability *in vitro* and *in vivo* in rats. *J. Cereal Sci.*, 1998, 28 (2), 209-214.
- [21] Skrabanja V., Liljeberg Elmståhl H.G., Kreft I., Björck I.M.: Nutritional properties of starch in buckwheat products: Studies *in vitro* and *in vivo*. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49 (1), 490-496.
- [22] Srichuwong S., Sunarti T.C., Mishima T., Isono N., Hisamatsu M.: Starches from different botanical sources II: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydr. Polym.*, 2005, 60, 529-538.
- [23] Stempińska K., Soral-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A.: Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2007, 5 (54), 66-76.
- [24] Stempińska K., Soral-Śmietana M.: Składniki chemiczne i ocena fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 2 (47) Supl., 348-357.
- [25] Takahama U., Hirota S.: Fatty acids, epicatechin-dimethylgallate, and rutin interact with buckwheat starch inhibiting its digestion by amylase: Implications for the decrease in glycemic index by buckwheat flour. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58 (23), 12431-12439.
- [26] Thompson L.U., Robb P., Serraino M., Cheung F.: Mammalian lignin production from various foods. *Nutr. Cancer*, 1991, 16, 43-52.
- [27] Thorne M.J., Thompson L.U., Jenkins D.J.: Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1983, 38, 481-488.
- [28] Wang T.L., Bogracheva T.Y., Hedley C.L.: Starch: As simple as A, B, C? *J. Exp. Bot.*, 1998, 49, 481-502.
- [29] Warren F.J., Royall P.G., Gaisford S., Butterworth P.J., Ellis P.R.: Binding interactions of α -amylase with starch granules: The influence of supramolecular structure and surface area. *Carbohydr. Polym.*, 2011, 86, 1038-1047.
- [30] Williams P.C., Kuzina F.D., Hlynka I.: A rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. *Cereal Chem.*, 1970, 47, 411-420.
- [31] Zaidul I.S.M., Absar N., Kim S.-J., Suzuki T., Karim A.A., Yamauchi H., Noda T.: DSC study of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, cassava, and yam starches. *J. Food Eng.*, 2008, 86, 68-73.
- [32] AOAC: Official Methods of Analysis. 15th Ed. AOAC, Arlington, VA, USA, 1990.

PROPERTIES AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF BUCKWHEAT STARCH COMPARED TO WHEAT STARCH

S u m m a r y

Products containing buckwheat flour are characterized by a good nutritional value and pro-health substances contained therein as well as by a low glycemic index. Those features can be useful when designing new products containing buckwheat grains. The objective of the research study was to compare some selected properties of starch isolated from buckwheat with the features of buckwheat flour and wheat starch.

It has been proved that, because the size of buckwheat starch granules is more than 10 times smaller than that of wheat starch, their properties vary widely, although the two starches have the same type of polymorphic structure and a similar content of amylose. The buckwheat starch had a higher gelatinization temperature and its enthalpy of gelatinization transition was higher than that of the wheat starch. In the case of the buckwheat flour, even higher values of gelatinization transition temperatures were recorded as were low values of swelling power and amylose leaching ability, which, likely, resulted from the presence of proteins on the surface of starch granules. Those properties affected the digestibility of starch. The starch in the buckwheat (raw) flour was characterized by a high content of resistant starch (RS); however, after it was isolated from the flour, the content of RS was insignificant and lower than that in the wheat starch. After cooking, the percentage contents of rapidly digested starch in the flour and in the isolated starch were at a similar level. After gelatinization, the content of RS was higher in the buckwheat than in the wheat starch; this fact indicated that the susceptibility of buckwheat starch to retrogradation was higher than that of the wheat starch.

Key words: buckwheat flour, buckwheat and wheat starches, resistant starch (RS), swelling power, amylose leaching ☒

ANNA SOBCZYK, RAFAŁ WIŚNIEWSKI, SABINA LACHOWICZ,
GRAŻYNA JAWORSKA, TOMASZ PIECHOWIAK

WPŁYW SERWATKI SOJOWEJ NA WŁAŚCIWOŚCI FERMENTACYJNE MĄKI PSZENNEJ I ŻYTNIEJ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku serwatki sojowej na właściwości fermentacyjne mąki pszennej typu 750 i żytniej typu 720. Serwatkę sojową stosowano jako zamiennik wody w ilości 50 i 100 % w stosunku do ilości wody używanej w próbie kontrolnej, prowadzonej bez serwatki. Zaobserwowano korzystny wpływ dodatku serwatki na właściwości fermentacyjne mąki. Pozytywne efekty uzyskano zwłaszcza w przypadku mieszaniny serwatki sojowej i wody w stosunku 1 : 1. Stwierdzono wówczas wzrost ogólnej ilości ditlenku węgla wydzielonego podczas fermentacji ciasta pszennego o 9 %, a żytniego – o 10 % oraz wzrost ilości gazu zatrzymanego przez badane ciasta odpowiednio: o 4 i 9 %. Całkowite zastąpienie wody serwatką sojową pozwoliło istotnie zmniejszyć czas fermentacji ciasta pszennego do rozrostu optymalnego o 38 %, natomiast ciasta żytniego – o 11 %. Nie zaobserwowano wyraźnych zmian pod względem jakości badanych kleików pszennych i żytnich po wprowadzeniu serwatki sojowej. Odnotowano tylko nieznaczny wzrost początkowej temperatury kleikowania w przypadku wszystkich zawiesin sporządzonych z jej udziałem. Dodatek do mąki 50-procentowego roztworu serwatki spowodował zwiększenie aktywności amylolitycznej danej próby, co znalazło wyraz w postaci obniżenia liczby opadania mąki pszennej średnio o 3 %, a mąki żytniej – o 13 %. Przeprowadzone badania wskazują, że serwatka sojowa może być stosowana jako naturalny regulator zdolności gazotwórczej mąki, zwłaszcza żytniej.

Słowa kluczowe: serwatka sojowa, mąka pszenna, mąka żytnia, właściwości fermentacyjne

Wprowadzenie

Pieczywo jest dobrym źródłem składników odżywczych. Jego znaczenie w żywieniu człowieka wynika z zawartości składników, takich jak: węglowodany, białka, sole

Dr inż. A. Sobczyk, mgr inż. R. Wiśniewski, prof. dr hab. inż. G. Jaworska, Katedra Ogólnej Technologii Żywności i Żywnienia Człowieka, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów, mgr inż. S. Lachowicz, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chelmońskiego 37, 51-630 Wrocław, mgr inż. T. Piechowiak, Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Ćwiklińskiej 2, 35-601 Rzeszów. Kontakt: rwisniewski@ur.edu.pl

mineralne, tłuszcze, błonnik, witaminy z grupy B, a także z wielkości ich spożycia [25]. Zmniejszenie spożycia pieczywa, a przy tym różnorodność preferencji konsumentów dotyczących tego produktu są motywacją dla piekarzy do wprowadzania nowego sortymentu pieczywa, zwykle przez stosowanie w produkcji określonych dodatków zwiększających wartość odżywczą produktu. Wzbogacanie dodatkami w postaci surowców naturalnych, takich jak: mleko i jego przetwory, suszone drożdże spożywcze, zarodki pszenne czy nasiona roślin oleistych jest racjonalne z uwagi na technologię i bardziej pożądaną przez konsumentów niż wprowadzanie składników syntetycznych. Naturalne dodatki wnoszą bowiem nie tylko więcej składników odżywczych, ale często też poprawiają jakość sensoryczną wyrobu [6]. Dodatkiem zwiększającym zarówno wartość odżywczą, jak i technologiczną pieczywa może być serwatka sojowa.

Serwatkę sojową pozyskuje się w trakcie produkcji sera tofu. W celu jego otrzymania napój sojowy poddaje się koagulacji, zazwyczaj za pomocą chlorku wapnia lub magnezu, względnie kwasów organicznych. Dlatego też uzyskana serwatka cechuje się stosunkowo niskim pH, wynoszącym ok. $5 \div 6$, w zależności od ilości dodanego koagulantu i jakości surowca [8].

Celem pracy było określenie wpływu serwatki sojowej, dodawanej jako zamiennik wody, na właściwości fermentacyjne mąk chlebowych.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły mąki chlebowe: pszenna typu 750 i żytnia typu 720, wyprodukowane w zakładzie „Młyn Frysztak” w województwie podkarpackim oraz serwatka sojowa. Serwatkę sojową otrzymano w Katedrze Ogólnej Technologii Żywności i Żywienia Człowieka UR w Rzeszowie podczas produkcji tofu z nasion soi odmiany „Aldana”.

Wpływ serwatki sojowej na właściwości fermentacyjne mąk chlebowych analizowano poprzez określenie zmian aktywności enzymów amylolitycznych, właściwości reologicznych kleików skrobiowych i zdolności mąki do wytwarzania gazów w zależności od ilości dodanej serwatki.

Badania obejmowały pomiary takich parametrów fizykochemicznych, jak: kwasowość czynna serwatki [18], zawartość białka w serwatce – metodą Bradford [3], zawartość cukrów w serwatce – metodą Millera [12], wilgotność mąki – metodą suszarkową [17], kwasowość potencjalna mąki [7], liczba opadania – metodą Hagberga-Pertena (Falling Number 1900, Perten, Niemcy) [14] w modyfikacji autorów. Do pomiaru liczby opadania prób właściwych mąki pszennej typu 750 i żytniej typu 720 wodę destylowaną zastępowano w 50 i 100 % serwatką sojową. Ponadto przeprowadzano analizy właściwości reologicznych kleików skrobiowych za pomocą wiskografu (Viscograph-E, Brabender, Niemcy) oraz siły fermentacyjnej mąki z wykorzystaniem

laserowego fermentografu (Sadkiewicz Instruments, Polska) [24]. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Tabela 1. Wyznaczone i przyjęte warunki analizy wiskograficznej mąki pszennej i żytniej
Table 1. Designated and accepted conditions of viscographic analysis of wheat and rye flour

Parametr / Parameter	Rodzaj mąki / Type of flour	
	Pszenna typu 750 Wheat of type 750	Żytnia typu 720 Rye of type 720
Próba bez udziału serwatki sojowej / Sample without addition of soy whey		
Masa mąki / Flour weight [g]	80,5	78,6
Objętość wody destylowanej Volume of distilled water [cm ³]	419,5	421,4
Próba z 50-procentowym udziałem serwatki sojowej / Sample with 50 % soy whey		
Masa mąki / Flour weight [g]	80,5	78,6
Objętość wody destylowanej Volume of distilled water [cm ³]	209,8	210,7
Objętość serwatki sojowej Volume of soy whey [cm ³]	209,7	210,7
Próba ze 100-procentowym udziałem serwatki sojowej / Sample with 100 % soy whey		
Masa mąki / Flour weight [g]	80,5	78,6
Objętość serwatki sojowej Volume of soy whey [cm ³]	419,5	421,4

Do analizy właściwości reologicznych kleików skrobiowych przygotowywano zawiesiny sporządzane z mąki oraz wody destylowanej dozowanej w ilości zgodnej ze standardową metodyką oznaczeń (próby kontrolne) oraz zawiesiny, w których 50 lub 100 % wody przewidzianej metodą zastępowano serwatką sojową. Do badań wiskograficznych odważano 80 g mąki o wilgotności 14 % i odmierzano 420 cm³ wody destylowanej (tab. 1). Analizę rozpoczynano po osiągnięciu temperatury wiskografu równej 35 °C. Temperatura wzrastała do ustalonej wartości (95 °C) z szybkością 1,5 °C/min przez 40 min. Po osiągnięciu temp. 95 °C uzyskany kleik utrzymywano w tej temperaturze przez 5 min. Następnie schładzano go przez 4 min, obniżając temperaturę układu z szybkością 5 °C/min do temp. 75 °C. Prędkość obrotu cylindra pomiarowego wynosiła 75 obr./min. Całkowity czas analizy wynosił 49 min. Wszystkie próbki miały ustalony jednakowy profil temperaturowy. Wpływ serwatki sojowej na rozpad enzymatyczny skrobi badanych mąk analizowano z uzyskanych wiskogramów, na podstawie których określano temperaturę początkową i końcową kleikowania oraz lepkość maksymalną kleików.

Pomiar zdolności fermentacyjnej mąki przeprowadzano w temp. 35 °C. Podstawowe ciasto do analizy przygotowywano według receptury: 140 g mąki, 80 cm³ wody

wodociągowej, 2,5 g drożdży, 2 g soli kuchennej. Składniki mieszano w mieszarce laboratoryjnej (JŻ, Sadkiewicz Instruments, Polska) z mieszadłami hakowymi, przy niskich obrotach. W wyniku analiz uzyskano fermentogramy, z których odczytywano takie parametry, jak: czas do punktu krytycznego, objętość gazów ogółem wytworzonych podczas fermentacji, objętość gazów wydzielonych na zewnątrz ciasta, objętość gazów zatrzymanych w cieście w punkcie krytycznym.

W analizie statystycznej wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana ($p = 0,05$). Do obliczeń wykorzystano program Statistica 12.5 (StatSoft, Polska).

Wyniki i dyskusja

Na jakość pieczywa w głównej mierze wpływ ma jakość mąki oraz surowców dodatkowych wykorzystanych w procesie produkcji. Mąka pszenna typu 750 cechowała się wilgotnością na poziomie 14,5 % oraz kwasowością potencjalną wynoszącą 2,9 stopnia, natomiast wilgotność mąki żytniej wynosiła 12,5 %, a jej kwasowość – 4,4 stopnia (tab. 2). Hrušková i wsp. [6] używali mąki chlebowej o wilgotności 14,1 %, a jej kwasowość potencjalna kształtowała się na poziomie 3,4 stopnia. Ostasiewicz i wsp. [13] w badaniach nad jakością pieczywa żytniego wykorzystali mąkę żytnią o wilgotności 13,8 % i kwasowości na poziomie 5,2 stopnia. Obie mąki używane w niniejszych badaniach odpowiadały standardom jakościowym dla mąk chlebowych zalecanych przez Jakubczyka i wsp. [7].

Użyta w niniejszych badaniach serwatka sojowa, pełniąca rolę naturalnego dodatku technologicznego, charakteryzowała się pH wynoszącym 5,8. Zawierała 97,5 % wody, 1,3 % węglowodanów oraz 0,5 % białka (tab. 2) i była pod tym względem podobna do produktu, który badali Lay i wsp. [11].

Tabela 2. Parametry jakościowe mąki pszennej i żytniej oraz serwatki sojowej
Table 2. Quality parameters of wheat and rye flour and soy whey

Surowiec / Material	Parametr / Parameter	Wartość / Value
Mąka pszenna typu 750 Wheat flour of type 750	Zawartość wody / Water content [%]	14,5
	Kwasowość mąki [stopnie kwasowości] Acidity of flour [degree of acidity]	2,9
Mąka żytnia typu 720 Rye flour of type 720	Zawartość wody / Water content [%]	12,5
	Kwasowość mąki [stopnie kwasowości] Acidity of flour [degree of acidity]	4,4
Serwatka sojowa Soy whey	Zawartość wody / Water content [%]	97,5
	Węglowodany / Carbohydrates [%]	1,3
	Białko / Proteins [%]	0,5
	Kwasowość czynna / Active acidity [pH]	5,8

Wpływ serwatki sojowej na zmianę aktywności amylolitycznej mąki pszennej i żytniej na podstawie oznaczeń liczby opadania przedstawiono w tab. 3. Liczba opadania mąki pszennej typu 750 bez dodatku serwatki sojowej wskazuje na niską aktywność α -amylazy [22]. Mąka przeznaczona do wypieku pieczywa powinna wykazywać średnią aktywność amylolityczną mieszczącą się w zakresie $200 \div 280$ s [5]. Hrušková i wsp. [6] podają wartość liczby opadania mąki chlebowej pszennej na poziomie 217 s. Z kolei Koca i wsp. [10] używali mąki pszennej charakteryzującej się niską aktywnością wynoszącą 377 s. W badaniach własnych dodatek serwatki sojowej istotnie wpłynął na zmianę aktywności enzymatycznej mąki pszennej. W próbach z udziałem 50-procentowego roztworu serwatki nastąpił nieznaczny wzrost aktywności α -amylazy, wyrażający się zmniejszeniem liczby opadania o 8 s. Całkowite zastąpienie wody serwatką wpłynęło na wzrost liczby opadania tylko o 13 s. Mimo że omawiane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$), nie powinno mieć to większego znaczenia technologicznego w piekarstwie, gdyż wartości te mieszczą się w granicy powtarzalności przyjętej w oznaczaniu liczby opadania mąk pszennych [14]. Uzyskane wartości liczby opadania wszystkich próbek były zgodne z wymogami norm dla pszennej mąki chlebowej [16].

Tabela 3. Wartości liczby opadania mąki pszennej i żytniej determinowane wpływem serwatki sojowej
Table 3. Falling number values of wheat and rye flour as determined by impact of soy whey

Rodzaj mąki Type of flour	Udział serwatki / Content of soy whey		
	Próba bez udziału serwatki Sample without soy whey added	Próba z 50-proc. udziałem serwatki Sample with 50 % of soy whey added	Próba ze 100-proc. udziałem serwatki Sample with 100 % of soy whey added
	Wartość liczby opadania Value of falling number [s]		
Pszenna typu 750 Wheat flour of type 750	$284^b \pm 2,27$	$276^c \pm 1,93$	$297^a \pm 2,67$
Żytnia typu 720 Rye flour of type 720	$274^a \pm 1,64$	$238^c \pm 2,14$	$253^b \pm 1,77$

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ odchylenia standardowe / Table shows mean values $\pm$ standard deviations; $n = 3$; a - c – wartości w wierszach oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / values denoted by the same letter and placed in lines do not differ statistically significantly ($p \leq 0.05$).

Mąka żytnia typu 720 wykazywała wyższą aktywność enzymatyczną od mąki pszennej typu 750, co można uznać za normę w przypadku mąk dobrych jakościowo, ponieważ ziarno żyta cechuje większa podatność na porastanie niż ziarno pszenicy [21]. Mąka do wypieku pieczywa powinna charakteryzować się liczbą opadania

w przedziale $90 \div 240$ s [15]. Podawane w literaturze wartości są zróżnicowane. W badaniach Przygodzkiej i wsp. [20] nad jakością wypiekową mąki żytniej liczba opadania wynosiła 208 s, z kolei w pracy Buksy i wsp. [1] badana mąka żytnia typu 720 charakteryzowała się liczbą opadania 276 s. Dodanie serwatki sojowej do mąki żytniej miało podobny wpływ na jej aktywność amylolityczną jak w przypadku mąki pszennej. Zastąpienie wody w połowie serwatką spowodowało podwyższenie aktywności amylolitycznej (obniżenie liczby opadania o 36 s). Całkowite zastąpienie wody serwatką – przeciwnie, skutkowało obniżeniem aktywności amylolitycznej. Zmiany te, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) wewnątrz badanej grupy, mogą mieć wpływ na wartość wypiekową mąki. Reasumując, spośród badanych mąk, mąka żytnia cechująca się niską aktywnością α -amylazy zyskała na wartości wypiekowej dzięki zastosowaniu mieszaniny wody i serwatki sojowej w stosunku 1 : 1, gdyż jej aktywność amylolityczna wzrosła.

Tabela 4. Wyniki analizy wiskograficznej mąki pszennej i żytniej bez udziału serwatki sojowej oraz z jej udziałem

Table 4. Results of viscographic analysis of wheat and rye flours with and without soy whey added

Parametr Parameter	Udział serwatki / Content of soy whey		
	Próba bez dodatku serwatki Sample without soy whey added	Próba z 50-proc. udziałem serwatki Sample with 50 % of soy whey added	Próba ze 100-proc. udziałem serwatki Sample with 100 % of soy whey added
Mąka pszenna typu 750 / Wheat flour of type 750			
Temperatura początkowa kleikowania Initial gelatinization temperature [°C]	60,70 ^b ± 0,36	61,92 ^{ab} ± 0,56	62,84 ^a ± 0,43
Lepkość maksymalna kleiku Maximum viscosity of gruel [BU]	345 ^c ± 2,07	366 ^b ± 3,29	478 ^a ± 3,35
Temperatura końcowa kleikowania Final gelatinization temperature [°C]	75,50 ^{bc} ± 0,45	76,61 ^{ab} ± 0,69	78,30 ^a ± 0,55
Mąka żytnia typu 720 / Rye flour of type 720			
Temperatura początkowa kleikowania Initial gelatinization temperature [°C]	55,51 ^b ± 0,33	57,42 ^{ab} ± 0,52	57,90 ^a ± 0,41
Lepkość maksymalna kleiku [BU] Maximum viscosity of gruel	649 ^b ± 3,89	483 ^c ± 4,37	661 ^a ± 4,62
Temperatura końcowa kleikowania Final gelatinization temperature [°C]	72,14 ^a ± 0,43	71,81 ^b ± 0,65	71,84 ^b ± 0,51

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Wyniki oznaczeń wiskograficznych mąki pszennej i żytniej przedstawiono w tab. 4. Dodatek serwatki sojowej w ilości 50 i 100 % w przypadku mąki pszennej praktycz-

nie nie miał większego znaczenia dla przebiegu procesu kleikowania skrobi. Według Szafrąńskiej i Rothkaehl [27] średnia aktywność α -amylazy mąki pszennej przeznaczonej do wypieku pieczywa, wyrażona za pomocą lepkości kleików skrobiowych, waha się w zakresie $300 \div 800$ BU. W pracy Karolini-Skaradzińskiej i wsp. [9] wartość lepkości maksymalnej kleiku z mąki pszennej typu 750 wynosiła 818 BU. W badaniach własnych wyniki analiz wiskograficznych mąki pszennej typu 750, bez względu na udział serwatki sojowej, mieszczą się w dolnej granicy podanego przedziału.

W przypadku mąki żytniej do produkcji chleba optymalna lepkość sporządzonych kleików powinna się zawierać w przedziale $400 \div 600$ BU [26]. Szafrąńska i wsp. [28] uzyskali lepkość maksymalną zawiesin z mąk żytnich w przedziale $480 \div 920$ BU. W pracy Ostasiewicz i wsp. [13] lepkość kleików z mąki żytniej typu 720 wynosiła 650 BU. Wprowadzenie do mąki żytniej typu 720 serwatki sojowej w postaci mieszaniny z wodą w stosunku 1 : 1 wpłynęło na istotne zmniejszenie lepkości maksymalnej powstałego kleiku oraz temperatury końcowej kleikowania, natomiast zwiększeniu uległa temperatura początkowa kleikowania, co wskazuje na wzrost aktywności amylolicznej tej mąki (tab. 4). Uzyskane parametry pozwoliły ostatecznie zakwalifikować badaną mąkę żytnią do średnich pod względem aktywności enzymatycznej i w związku z tym można przeznaczyć ją do wypieku każdego rodzaju chleba żytniego czy mieszanego.

Czynnikami determinującymi różnice między parametrami wiskograficznymi mąki pszennej i żytniej są: odmienny skład chemiczny, a zwłaszcza większa zawartość w mące żytniej substancji towarzyszących, przede wszystkim pentozanów oraz rozbieżności w budowie strukturalnej skrobi [4, 19]. Efektem jest m.in. znacznie większa lepkość maksymalna kleików żytnich, potwierdzona również w niniejszych badaniach. Wprowadzenie serwatki sojowej spowodowało istotny wzrost lepkości kleików pszennych. Po zastosowaniu serwatki w ilości 50 % całkowitej objętości użytego płynu w kleikach żytnich stwierdzono natomiast istotne zmniejszenie wartości tej cechy. Jak podaje Tegge [29], zwiększona obecność kwasów organicznych w zawieszynie skrobi wpływa na obniżenie temperatury początkowej kleikowania. Po wprowadzeniu do badanych prób serwatki sojowej o lekko kwaśnym odczynie, niezależnie od jej udziału ilościowego i rodzaju mąki, następowało podwyższenie temperatury początkowej kleikowania w stosunku do prób bez dodatku serwatki. W badaniach Szafrąńskiej i wsp. [27, 28] wraz ze wzrostem aktywności α -amylazy w mące żytniej następowało obniżenie temperatury. Po przeanalizowaniu wartości liczby opadania i temperatury kleikowania uzyskanych w niniejszych badaniach stwierdzono, że mimo zmian aktywności amylolicznej pod wpływem dodatku serwatki sojowej, temperatura początkowa kleikowania mąki pszennej i żytniej zawsze wzrastała.

Zdolność ciast pszennych i żytnich do wytwarzania i zatrzymywania gazów w zależności od dodatku serwatki sojowej analizowano za pomocą fermentografu. Wyniki

oznaczeń przedstawiono w tab. 5. W cieście wytworzonym z mąki pszennej bez dodatku serwatki ilość zatrzymanych gazów, równoznaczna z przyrostem objętości ciasta do punktu krytycznego, czyli do 62 min fermentacji, stanowiła 71 % gazów ogółem, zatem objętość gazów wydzielonych poza ciasto wynosiła 29 %. Dodatek 50-procentowej serwatki wpłynął na wydłużenie czasu krytycznego do 72 min i zwiększenie ogólnej ilości wytwarzanych gazów. Efekt prawdopodobnie został wywołany zwiększeniem podaży cukrów, których źródłem była serwatka. Objętość gazów zatrzymanych w cieście uległa natomiast zmniejszeniu i stanowiła 67 % gazów ogółem, a straconych – zwiększeniu do 33 %. W przypadku całkowitego zastąpienia wody serwatką sojową czas fermentacji uległ skróceniu o blisko połowę (do 38 min) zarówno w stosunku do próby kontrolnej, jak i próby z 50-procentowym roztworem serwatki. Odnotowano jednocześnie wyraźnie mniejszą, średnio o 42 %, objętość wydzielonego gazu ogółem niż w pozostałych próbach. Strata wydzielonych gazów we wszystkich ciastach pszennych i żytnich kształtowała się na zbliżonym poziomie ok. 32 %.

Tabela 5. Wartości parametrów fermentograficznych badanych ciast pszennych i żytnich

Table 5. Values of fermentographic parameters of wheat and rye doughs analysed

Parametr Parameter	Udział serwatki / Content of soy whey		
	Próba bez dodatku serwatki Sample without soy whey added	Próba z 50-proc. udziałem serwatki Sample with 50 % of soy whey added	Próba ze 100-proc. udziałem serwatki Sample with 100 % of soy whey added
Mąka pszenna typu 750 / Wheat flour of type 750			
Czas do punktu krytycznego Critical point [min]	62 ^b ± 0,43	72 ^a ± 0,31	38 ^c ± 0,23
Objętość gazów ogółem Total volume of gases [cm ³]	387 ^b ± 2,19	422 ^a ± 1,53	169 ^c ± 1,01
Objętość gazów zatrzymanych Volume of gases trapped [cm ³]	272 ^{ab} ± 0,91	284 ^a ± 0,62	114 ^c ± 0,65
Objętość gazów traconych Volume of gases released [cm ³]	115 ^b ± 0,80	138 ^a ± 0,75	55 ^c ± 0,33
Mąka żytnia typu 720 / Rye flour type 720			
Czas do punktu krytycznego Critical point [min]	36 ^a ± 0,25	36 ^a ± 0,21	32 ^{ab} ± 0,19
Objętość gazów ogółem Total volume of gases [cm ³]	136 ^b ± 0,92	150 ^a ± 0,90	126 ^c ± 0,75
Objętość gazów zatrzymanych Volume of gases trapped [cm ³]	91 ^b ± 0,64	100 ^a ± 0,60	86 ^c ± 0,51
Objętość gazów traconych Volume of gases released [cm ³]	45 ^b ± 0,32	50 ^a ± 0,3	40 ^{bc} ± 0,24

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Optymalny rozrost ciasta żytniego trwał średnio 35 min. Wprowadzenie serwatki sojowej do ciasta w ilości 50 % objętości płynu przewidywanego recepturą nie wpłynęło na czas fermentacji. Zaobserwowano natomiast największą spośród analizowanych prób ilość zatrzymanego przez ciasto ditlenku węgla, wynoszącą 67 % gazu wytworzonego ogółem. Częściowe zastąpienie wody serwatką sojową wpłynęło korzystnie na ilość wydzielonego ditlenku węgla ogółem, ale również na strukturę ciasta, co przełożyło się na wyraźny wzrost ilości ditlenku węgla zatrzymanego przez ciasto w stosunku do próby bez serwatki. Całkowite zastąpienie wody serwatką sojową nieznacznie skróciło czas fermentacji ciasta, a ilość ditlenku węgla wydzielonego ogółem oraz zatrzymanego przez ciasto uległa istotnemu zmniejszeniu w porównaniu z pozostałymi próbami.

Wykonane analizy potwierdzają prawidłowość podobną do przedstawionej przez Różyłę [23] pomiędzy aktywnością α -amylazy a ilością wytworzonych gazów podczas fermentacji. Zależność tę wyraźnie można zaobserwować w przypadku prób z mąki żytniej. Zastąpienie wody w połowie serwatką sojową wpłynęło na zwiększenie aktywności amylolitycznej zawiesiny, a ciasto wytworzone z taką samą ilością serwatki uzyskało największą objętość podczas fermentacji. Znaczne różnice poziomu parametrów fermentograficznych między ciastami pszennymi i żytnimi, które można zauważyć bez względu na obecność w nich serwatki sojowej, wynikały ze sposobu tworzenia struktury obu ciast, warunkowanego ich składem chemicznym [28].

Zarówno w przypadku ciasta pszennego, jak i żytniego, stosowanie 50-procentowego roztworu serwatki w ilości zgodnej z recepturą ciasta oznaczało poprawę jego właściwości fermentacyjnych. Można założyć, że składniki serwatki zoptymalizowały środowisko do działania enzymów amylolitycznych i w pewnym stopniu wpłynęły na strukturę skrobi, która stała się bardziej podatna na rozpad. Dodatkowo, ciasto wzbogacone w cukry i białka pochodzące z serwatki sojowej stanowiło korzystne warunki dla rozwoju drożdży, przyczyniając się do wzrostu objętości ciasta. Zatem serwatka sojowa może być stosowana jako naturalny regulator zdolności gazotwórczej mąki. Ustalenie zasad dawkowania wymaga kontynuacji badań na szerszym materiale doświadczalnym.

Wnioski

1. Serwatka sojowa miała wpływ na właściwości fermentacyjne badanych mąk: pszennej typu 750 i żytniej typu 720, a ostateczny efekt jej działania, w przypadku obu rodzajów mąk, zależał od wielkości dodatku.
2. Zastosowanie serwatki w ilości 50 % całkowitej objętości płynu wpłynęło korzystnie na poprawę zdolności fermentacyjnej badanych mąk z uwagi na wzrost objętości gazów wytworzonych i zatrzymanych w cieście.

3. Zastąpienie wody w 100 % serwatką sojową przy sporządzaniu ciast i zawiesin, zarówno pszennych, jak i żytnich, generalnie wpłynęło negatywnie na ich jakość. Istotnie zmniejszył się czas optymalnej fermentacji oraz ilość gazu zatrzymanego przez ciasta, a także nieznacznie zwiększyła się początkowa temperatura kleikowania ciasta pszennego i żytniego.
4. Serwatka sojowa może stanowić naturalny regulator zdolności gazotwórczej mąki pszennej i żytniej.

Badania sfinansowane w ramach dotacji Uniwersytetu Rzeszowskiego na utrzymanie potencjału badawczego, nr PB/KTiOJPR-1/2016.

Literatura

- [1] Buksa K., Ziobro R., Nowotna A., Gambuś H.: The influence of native and modified arabinosyran preparations on baking properties of rye flour. *J. Cereal Sci.*, 2013, 58, 23-30.
- [2] Blazek J., Copeland L.: Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content. *Carbohydr. Polym.*, 2008, 71, 380-387.
- [3] Bradford M.: A rapid and sensitive method of the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248-254.
- [4] Dzik D., Różyło R., Gawlik-Dziki U., Świeca M.: Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, 40, 48-61.
- [5] Gąsiorowski H.: Pszenica – chemia i technologia. Praca zbiorowa. Wyd. PWRiL, Poznań 2004.
- [6] Hrušková M., Machová D.: Changes of wheat flour properties during short term storage. *Czech J. Food Sci.*, 2002, 20 (4), 125-130.
- [7] Jakubczyk T., Haber T.: Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW-AR, Warszawa 1983.
- [8] Karolini-Skaradzińska Z., Czubaszek A., Łuczak D., Frączak A.: Jakość ciasta i pieczywa pszennego z dodatkiem serwatki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 6 (73), 46-57.
- [9] Karolini-Skaradzińska Z., Czubaszek A., Stanisławska M., Szewców P.: Zmiany właściwości wypiekowych mąki pszennej pod wpływem dodatku maltodekstryn. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 4 (83), 108-121.
- [10] Koca A.F., Anil M.: Effect of flaxseed an wheat flour blends on dough rheology and bread qauality. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, 87, 1172-1175.
- [11] Lay C.H., Sen B., Huang S.C., Chen C.C., Lin C.Y.: Sustainable bio-energy production from tofuprocessing wastewater by anaerobic hydrogen fermentation for onsite energy recovery. *Renew. Energ.*, 2013, 58, 60-67.
- [12] Miller G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 1959, 31(3), 426-428.
- [13] Ostasiewicz A., Ceglińska A., Skowronek S.: Jakość pieczywa żytniego z dodatkiem zakwasów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 2 (63), 67-74.
- [14] PN-EN ISO 3093:2010. Pszenica, żyto i mąki z nich uzyskane, pszenica durum i semolina. Oznaczanie liczby opadania metodą Hagberga-Pertena.
- [15] PN-A-74032:2002. Przetwory zbożowe. Mąka żytnia.
- [16] PN-A-74022:2003. Przetwory zbożowe. Mąka pszenna.
- [17] PN-ISO 712:2012. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Metoda odwoławcza.
- [18] PN-EN 1132:1999. Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie pH.
- [19] Popper L., Grabiński K.: Porost zbóż. Metoda poprawy jakości wypiekowej mąki. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2006, 11 (50), 23.

- [20] Przygodzka M., Piskula M.K., Kurkurová K., Ciesarová Z., Bedanrikova A., Zieliński H.: Factors influencing acrylamide formation in rye, wheat and spelt breads. *J. Cereal Sci.*, 2015, 65, 96-102.
- [21] Rogozińska I., Sadkiewicz J., Pobereźny J.: Określenie aktywności enzymów amylolitycznych jako wskaźnik decydujący o jakości mąk żytnich. *Inż. Apar. Chem.*, 2009, 2 (48), 122-124.
- [22] Rothkaehl J.: Liczba opadania – wyróżnik jakościowy charakteryzujący aktywność enzymatyczną ziarna pszenicy i żyta. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2010, 12 (54), 24-26.
- [23] Różyło R.: Właściwości fermentacyjne ciasta i cechy fizyczne chleba pszennego wypiekanego z mąki o różnej temperaturze. *Acta Agroph.*, 2011, 1 (17), 177-189.
- [24] Sadkiewicz K., Sadkiewicz J.: Urządzenia pomiarowo-badawcze dla przetwórstwa zbożowo mącznego. Wyd. Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej, Bydgoszcz 1998.
- [25] Slavin J.: Whole grains and human health. *Nutr. Res. Rev.*, 2004, 1 (17), 99-110.
- [26] Słowik E.: Właściwości technologiczne i metody oceny żyta. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2005, 53 (3), 6-9.
- [27] Szafrąńska A., Rothkaehl J.: Liczba opadania a maksymalna lepkość kleiku skrobiowego mąki pszennej. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2011, 10 (55), 6-7.
- [28] Szafrąńska A., Słowik E.: Zmiany właściwości wypiekowych mąki żytniej pod wpływem dodatku alfa-amylazy. *Acta Agroph.*, 2014, 2 (21), 233-245.
- [29] Tegge G.: Skrobia i jej pochodne. Oddz. Małopolski PTTŻ, Kraków 2010.

EFFECT OF SOY WHEY ON FERMENTATION PROPERTIES OF WHEAT AND RYE FLOURS

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of soy whey on fermentation properties of wheat flour of type 750 and rye flour of type 720. Soy whey was added as a substitute of water and its amount was 50 % and 100 % by weight of water used in the control sample prepared without soy whey. It was found that the soy whey added had a favourable effect on the fermentation properties of flour. In particular, positive results were obtained for the 1: 1 mixture of soy whey and water. In the latter case, it was found that the total quantity of carbon dioxide released during fermentation of wheat flour dough increased by 9 % and that of rye flour dough by 10 %, and the quantity of gas trapped in the doughs analysed increased by 4 and 9 %, respectively. In the case of replacing 100 % of water with soy whey, it was possible to significantly reduce the fermentation time of wheat flour to the optimum growth of 38 % and that of the rye flour dough to 11 %. No apparent changes were found in the quality of the wheat and rye gruels with the soy whey added. Only a slight increase in the initial gelatinization temperature was reported for all the suspensions made with the soy whey added. A 50 % solution of whey added to the flour caused the amylolytic activity in the sample to increase, and the result thereof was a reduction in the falling number of wheat flour by 3 % on average, and that of rye flour by ca. 13 %. The research study performed suggests that the soy whey can be used as a natural regulator of the gas-generating ability of flours, especially of rye flour.

Key words: soy whey, wheat flour, rye flour, fermentation properties 

IZABELLA KWAŚNIEWSKA-KAROLAK

**WPŁYW ZAMRAŻALNICZEGO PRZECHOWYWANIA
NA ZAWARTOŚĆ WITAMINY C I WYBRANE CECHY
FIZYKOCHEMICZNE OWOCÓW PAPRYKI SŁODKIEJ
(*CAPSICUM ANNUUM L.*)**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu czasu (9 tygodni) i temperatury zamrażalniczego przechowywania (-20 °C i -80 °C) na zawartość wybranych składników (kwasu L-askorbinowego – KA, sumy kwasu L-askorbinowego i L-dehydroaskorbinowego – KDA oraz suchej masy), jak również na kwasowość ogólną i teksturę owoców słodkiej papryki (żółtej i czerwonej) odmiany 'California'.

Podczas zamrażalniczego przechowywania całych owoców papryki następował w nich stopniowy wzrost zawartości suchej masy, istotnie zróżnicowany w zależności od czasu i temperatury przechowywania. W papryce przechowywanej w temp. -80 °C końcowa zawartość suchej masy była istotnie mniejsza niż przechowywanej w -20 °C. Wzrost zawartości suchej masy w owocach papryki czerwonej i żółtej przechowywanej w niższej temperaturze wyniósł odpowiednio: 6,8 i 9,3 %, natomiast w wariancie wyższej temperatury były one znacznie większe i wynosiły 14,8 % (papryka czerwona) i 17 % (papryka żółta). Świadczy to o mniejszym ubytku wody z owoców papryki przechowywanych w niższej temperaturze. Zaobserwowano zmniejszenie zawartości KA oraz sumy KA i KDA, przy czym był on największy w początkowym okresie przechowywania. Po zakończeniu eksperymentu średnie straty kwasu L-askorbinowego w papryce czerwonej przechowywanej w temp. -80 °C i -20 °C wyniosły odpowiednio: 37 i 41 %, natomiast w papryce żółtej – 28 i 35 %. Zmniejszenie sumy KA i KDA w papryce czerwonej przechowywanej w temp. -80 °C i -20 °C wyniosło odpowiednio: 49 i 56 %, a w papryce żółtej – 41 i 43 %. Końcowa zawartość całkowitego kwasu askorbinowego w papryce przechowywanej w obu temperaturach była do siebie zbliżona, natomiast istotnie większą zawartość KA stwierdzono w owocach obu rodzajów papryki przechowywanych w -80 °C. Kwasowość ogólna papryki wzrosła ok. dwukrotnie z 0,26 do 0,49 mg/100 g kwasu jabłkowego w przypadku obu wariantów temperaturowych przechowywania papryki żółtej oraz z 0,25 do 0,54 i 0,52 mg/100g kwasu jabłkowego w przypadku papryki czerwonej przechowywanej odpowiednio: w temp. -20 °C i -80 °C. Wartość kwasowości uległa zmianom niezależnie od zastosowanej temperatury zamrażalniczego przechowywania. Tekstura papryki zmieniła się szczegól-

*Dr I. Kwaśniewska-Karolak, Instytut Technologii i Analizy Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924, Łódź.
Kontakt: izabella.kwasniewska-karolak@p.lodz.pl*

nie w pierwszym tygodniu zamrażalniczego przechowywania. Zmiany te były bardziej intensywne w owocach przechowywanych w temp. -20 °C.

Słowa kluczowe: papryka zamrożona, witamina C, sucha masa, kwasowość, tekstura

Wprowadzenie

Warzywa i owoce są nieodłącznym elementem diety. Zaleca się ich spożywanie 5 razy dziennie. Produkty roślinne są bogatym źródłem witamin, składników mineralnych, kwasów organicznych oraz błonnika pokarmowego [8]. Owoce papryki charakteryzuje szczególny skład chemiczny. Odmiany słodkie i ostre są wykorzystywane do produkcji przypraw, mrożonek oraz marynat. Często papryka wykorzystywana jest do produkcji tzw. produktów gotowych do spożycia (*ready to cook*) na zimno lub na ciepło oraz żywności wygodnej [26]. W branży kulinarnej papryka nadaje się do przyrządzania potraw smażonych oraz pieczonych z mięsem, ryżem i rybami lub jako dodatek do sałatek poprawiający barwę oraz smak potraw [1].

Papryka słodka, nazywana również pieprzowcem rocznym (*Capsicum annuum*), należy do warzyw jednorocznych z rodziny psiankowatych. Częścią jadalną jest jagoda o twardych, soczystych ścianach, w której może znajdować się od 2 do 6 komór [25]. Poszczególne odmiany charakteryzują się różną wielkością owoców, a w zależności od kształtu wyróżnia się owoce duże, długie, cienkie, spłaszczone, owalne oraz okrągłe. Barwa papryki może być zielona, biała, żółta, pomarańczowa, czerwona oraz fioletowa. Barwa zielona może także świadczyć o niedojrzałej formie papryki czerwonej, żółtej i pomarańczowej. Jest to cecha odmianowa, stąd pozostałe odmiany nie zmieniają barwy z zielonej na właściwą. Smak papryki może być pikantny (duża zawartość kapsaicyny) lub słodki (znikoma zawartość kapsaicyny) [7, 8]. W Polsce najpopularniejszą odmianą uprawową jest papryka 'King Arthur'. Jedną z powszechnie wykorzystywanych odmian papryki, nie tylko w kuchni azjatyckiej i meksykańskiej, jest papryczka chilli, która swój charakterystyczny, ostry smak zawdzięcza obecności alkaloidu – kapsaicyny. Kapsaicyna cechuje się oddziaływaniem prozdrowotnym na organizm człowieka [1]. Stężenie kapsaicyny mierzy się w jednostkach Scoville'a. Najostrejsze w smaku papryczki należą do gatunku Habanero (*Capsicum chinense*) – ich ostrość wynosi od 200000 do 350000 jednostek. Papryczki o niezbyt ostrym smaku mają moc ponad 300-krotnie mniejszą, wynoszącą ok. 600 jednostek.

Papryka zaliczana jest do grupy produktów bogatych w witaminę C, zawiera jej więcej niż owoce cytrusowe. Poza witaminą C papryka jest dobrym źródłem β-karotenu oraz flawonoidów, które mogą wykazywać działanie przeciwnowotworowe [25]. Zawartość poszczególnych składników odżywczych jest zależna od stopnia dojrzałości, jak i odmiany. Owoce bardziej dojrzałe zawierają tych składników więcej niż owoce niedojrzałe lub słabo wybarwione [29]. Odmiany czerwone charakteryzują się

ok. 16-krotnie większą zawartością witaminy A w porównaniu z odmianami zielonymi. Zawartość β -karotenu w 100 g papryki czerwonej wynosi 3165 μg , natomiast w papryce zielonej – jedynie 193 μg [8].

Głównymi procesami, które zachodzą w warzywach po zbiorze są oddychanie oraz transpiracja. Są to procesy przyczyniające się do zmian jakości, utraty masy, starzenia się oraz psucia [4]. Ze względu na ograniczoną trwałość, warzywa i owoce po zbiorze powinny być w jak najkrótszym czasie spożyte bądź przetworzone. Sposobem pozwalającym zachować najwyższą jakość i wartość odżywczą jest zamrażanie i zamrażalnicze przechowywanie [13]. Całkowite utrwalenie produktów pochodzenia roślinnego uzyskuje się w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ i niższej. Produkty mrożone i głęboko mrożone (temp. $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) można przechowywać od kilku do kilkunastu miesięcy. Metoda ta pozwala zachować w stopniu jak najmniej zmienionym walory smakowe i składniki odżywcze zawarte w produkcie w porównaniu z pozostałymi metodami termicznymi utrwalania żywności [6]. Podczas zamrażalniczego przechowywania produktów roślinnych zachodzą procesy fizyczne, biochemiczne, chemiczne, enzymatyczne, jak i zmiany mikrobiologiczne, które mają wpływ na zawartość związków odżywczych. Zmiany zawartości witamin w owocach i warzywach zależą głównie od czasu i temperatury przechowywania oraz czynników zewnętrznych. Wpływ tych czynników może powodować ubytki witaminy C w produktach roślinnych. Papryka jest bogatym źródłem witaminy C, która podczas przechowywania może ulegać reakcji utleniania pod wpływem działania jonów metali (Fe^{3+} lub Cu^{2+}) lub światła. Czynniki te wpływają znacząco na straty kwasu askorbinowego. Straty witaminy można ograniczyć przez przechowywanie w temperaturze bliskiej $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ w kontrolowanej atmosferze i bez dostępu światła [3].

Celem pracy było określenie wpływu czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania na wybrane cechy charakteryzujące skład chemiczny oraz teksturę owoców papryki.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły owoce czerwonej i żółtej papryki (kraj pochodzenia – Hiszpania) odmiany ‘California’ zakupione w markecie. Świeże, całe owoce pakowano (po 3 sztuki, masa 500 g) w torebki do mrożenia (wykonane z folii PPPE) o pojemności 1 dm^3 , zamykano elastycznymi klipsami, zamrażano i poddawano zamrażalniczemu przechowywaniu przez 9 tygodni w dwóch wariantach temperaturowych $-20 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $-80 \pm 3,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Przygotowano po 3 sztuki opakowań z każdego rodzaju papryki. Zamrażanie i zamrażalnicze przechowywanie odbywało się w zamrażarce typu Samsung (Samsung Electronics, Suwon, Korea Południowa). Zastosowanie dwóch wariantów temperaturowych miało na celu porównanie wpływu głębokiego mrożenia w ultraniskiej temperaturze ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) na zmiany tekstury owoców papryki

oraz zmiany zawartości witaminy C podczas przechowywania. Zmiany te wynikają z częściowej utraty ciągłości tkanek na skutek zachodzącej podczas procesu zamrażania przemiany fazowej wody w lód. Istotnym elementem w tych przemianach jest prędkość zamrażania, która zależy między innymi od temperatury otoczenia. Niższe temperatury zamrażania sprzyjają utrzymaniu wyższej jakości utrwalanego produktu [4].

W badanym materiale oznaczano: zawartość suchej masy [17], kwasowość miareczkową [14], zawartość witaminy C (kwasu L-askorbinowego KA i całkowitego kwasu askorbinowego – sumy kwasu L-askorbinowego i dehydroaskorbinowego KDA) [15] oraz teksturę poprzez pomiar siły potrzebnej do przecięcia owocu i siły potrzebnej do przebicia skórki owocu [27]. Zawartość KA oraz sumy KA i KDA oznaczano metodą Tillmansa [15]. W celu przygotowania próbek do analiz owoce papryki rozdrabniano za pomocą ceramicznego noża i łączono z 2-procentowym roztworem kwasu szczawiowego, co zapewniało ochronę przed degradacją KA i KDA w czasie wykonywania analizy. Homogenat sączono, następnie miareczkowano mianowanym roztworem odczynnika Tillmansa. W celu usunięcia związków barwnych miareczkowanie wykonywano w obecności rozpuszczalnika organicznego – benzenu. Do przeprowadzenia redukcji kwasu dehydroaskorbinowego do kwasu askorbinowego używano siarczku sodu, następnie nadmiar siarczków strącano roztworem chlorku rtęci(II) (EUROCHEM BGD, Tarnów, Polska) i oznaczano zawartość sumy KA i KDA za pomocą miareczkowania 2,6-chlorofenolindofenolem (POCH, Gliwice, Polska). Zawartość KA i całkowitego kwasu askorbinowego wyrażano w $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ produktu.

W celu określenia zmian twardości papryki poddawano ją testowi wytrzymałości na deformację przy użyciu analizatora tekstury SHIMADZU EZ-LX (Shimadzu Co., Japonia) z oprogramowaniem Trapezjum X. Mierzono siłę, przy której produkt uległ trwałej deformacji aż do momentu przebicia jego skórki. Prędkość przesuwu noża wynosiła 1,5 mm/s. W chwili przebicia skórki i przecięcia owocu rejestrowano wartość siły F_{max} [N]. Testy wykonywano na wyciętych z papryki prostopadłościanach o wymiarach $15 \times 15 \times 5$ mm. Test przecięcia przebiegał z użyciem ostrza w kształcie litery „V” (tzw. test Wernera-Platzera), natomiast test przebicia skórki – z wykorzystaniem przystawki przebijającej.

Wszystkie analizy chemiczne wykonano w co najmniej 3 powtórzeniach, a analizy tekstury przeprowadzono w 8 powtórzeniach. Oznaczenia wykonano w produkcie świeżym (co oznaczono jako stan „0”), a następnie po kolejnych tygodniach (1 - 9) jego zamrażalniczego przechowywania. Materiał zamrożony rozmrażano do analiz w temp. 20 °C.

Wyniki opracowano statystycznie. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji. Do określenia istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi parametrów

badanej papryki zastosowano test t-Studenta ($p = 0,05$). Obliczenia wykonano w programie Excel 2010.

Wyniki i dyskusja

Dobór odpowiednich parametrów zamrażalniczego przechowywania papryki pozwala zachować jej dobrą jakość nawet w dłuższym okresie składowania. Podczas dziewięciu tygodni zamrażalniczego przechowywania owoców papryki zachodziły w nich zmiany wszystkich badanych wskaźników. W przypadku suchej masy zaobserwowano stopniowy, istotny wzrost jej zawartości (tab. 1).

W papryce przechowywanej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ końcowa zawartość suchej masy była istotnie mniejsza niż w przechowywanej w $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ubytki suchej masy w papryce przechowywanej w niższej temperaturze wyniosły 6,8 % (papryka czerwona) i 9,3 % (papryka żółta), natomiast w wariancie wyższej temperatury były one znacznie większe i wynosiły 14,8 % (papryka czerwona) i 17 % (papryka żółta).

Tabela 1. Zawartość suchej masy w papryce czerwonej i żółtej w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania [%]

Table 1. Content of dry matter in red and yellow peppers depending on time period and temperature of storage [%]

Czas przechowywania Time period of storage [tydzień / week]	Temperatura przechowywania / Temperature of storage [$^{\circ}\text{C}$]			
	-20	-80	-20	-80
	Papryka czerwona / Red pepper		Papryka żółta / Yellow pepper	
0	$7,50^{a,A} \pm 0,03$		$7,08^{a,B} \pm 0,02$	
1	$7,61^{b,A} \pm 0,03$	$7,56^{a,A} \pm 0,03$	$7,14^{a,A} \pm 0,02$	$7,12^{a,A} \pm 0,04$
2	$7,72^{c,A} \pm 0,05$	$7,61^{a,A} \pm 0,05$	$7,21^{b,A} \pm 0,02$	$7,17^{a,A} \pm 0,05$
3	$7,81^{c,A} \pm 0,04$	$7,72^{b,B} \pm 0,03$	$7,45^{c,A} \pm 0,03$	$7,21^{a,B} \pm 0,03$
4	$7,92^{c,A} \pm 0,06$	$7,78^{b,B} \pm 0,04$	$7,62^{d,A} \pm 0,04$	$7,30^{b,B} \pm 0,04$
5	$8,01^{c,A} \pm 0,05$	$7,81^{b,B} \pm 0,03$	$7,64^{d,A} \pm 0,03$	$7,38^{b,B} \pm 0,05$
6	$8,21^{d,A} \pm 0,04$	$7,86^{b,B} \pm 0,04$	$7,9^{e,A} \pm 0,04$	$7,51^{c,B} \pm 0,03$
7	$8,34^{e,A} \pm 0,04$	$7,9^{b,B} \pm 0,03$	$8,02^{e,A} \pm 0,05$	$7,62^{d,B} \pm 0,04$
8	$8,51^{f,A} \pm 0,03$	$7,96^{b,B} \pm 0,06$	$8,24^{f,A} \pm 0,03$	$7,69^{d,B} \pm 0,04$
9	$8,61^{g,A} \pm 0,02$	$8,01^{b,B} \pm 0,03$	$8,31^{f,A} \pm 0,04$	$7,74^{d,B} \pm 0,02$

Objaśnienia / Explanatory notes:

0 – badanie przeprowadzono na świeżej papryce / the study was conducted on fresh pepper. W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ odchylenia standardowe / Table shows mean values $\pm$ standard deviations; $n = 3$); a, b – wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in columns and denoted by different small letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B – wartości średnie oznaczone różnymi dużymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows and denoted by different capital letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

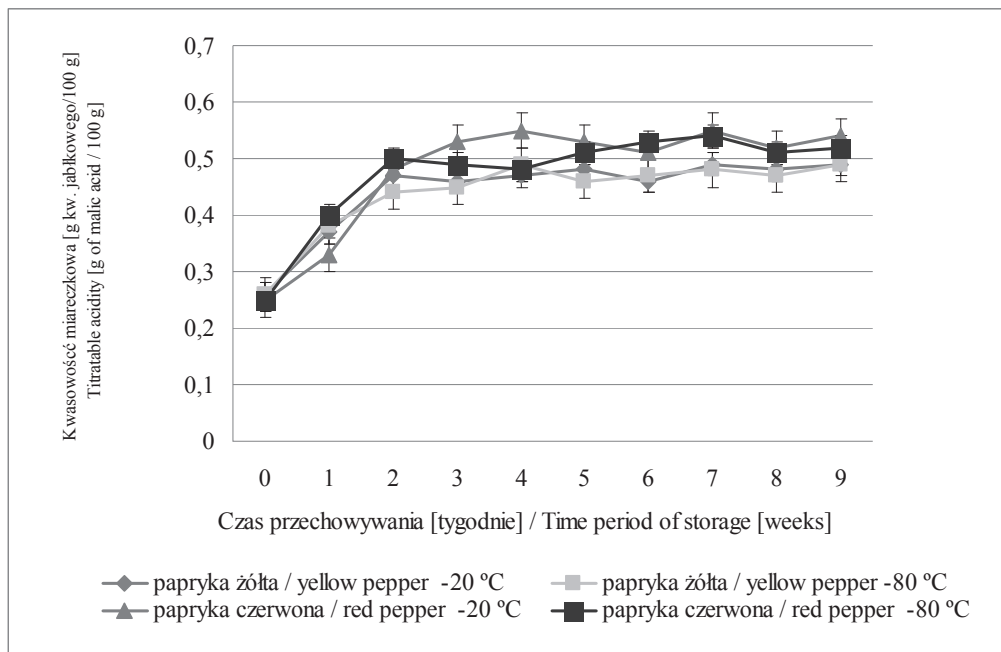
Na podstawie wyników zawartości suchej masy w owocach papryki czerwonej i żółtej stwierdzono statystycznie istotne różnice wynikające zarówno z czasu, jak i temperatury przechowywania. Podobny wzrost zawartości suchej masy zaobserwowano podczas zamrażalniczego przechowywania truskawek [22] oraz bulw ziemniaków przechowywanych w chłodni [28]. Utrata części wody zawartej w owocach skutkuje utratą jędrności, skraca ich trwałość i obniża wartość handlową [11]. Większą wartość użytkową, przy mniejszym ubytku wody z tkanek, zachowały owoce papryki przechowywane w -80°C .

W czasie zamrażalniczego przechowywania papryki zaobserwowano niewielkie ubytki wody, na co wskazuje stopniowy wzrost zawartości suchej masy podczas 9 tygodni przechowywania (tab. 1). Ubytki wilgoci związane były z wystąpieniem wycieku soku komórkowego w wyniku uszkodzenia struktury komórkowej. Było to widoczne w przypadku papryki przechowywanej w wyższej temperaturze. Przechowywanie papryki w temp. -20°C spowodowało większe uszkodzenia związane z przemianą fazową wody w lód w porównaniu z temp. -80°C .

Kwasowość ogólna (miareczkowa) świeżej papryki żółtej i czerwonej wynosiła 0,25 g kwasu jabłkowego na 100 g produktu (rys. 1). Wartość ta jest zgodna z danymi literaturowymi [19]. W papryce zamrożonej w ciągu dwóch pierwszych tygodni jej przechowywania obserwowano istotny wzrost kwasowości ogólnej. W kolejnych tygodniach przechowywania nastąpiła stabilizacja wartości tego parametru. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem kwasowości ogólnej, wynikających z zastosowania różnych temperatur zamrażalniczego przechowywania.

Podobnie jak w niniejszej pracy, wzrost kwasowości ogólnej zaobserwowano w zamrażalniczo przechowywanych truskawkach [22] oraz w czerwonej papryce przechowywanej w modyfikowanej atmosferze [20]. W badaniach, które przeprowadzili Gonzales-Castro i wsp. [5], odnotowano z kolei zmniejszenie zawartości kwasów organicznych w mrożonej papryce 'Padron'. Wyjątkiem był kwas chinowy, którego zawartość wzrosła podczas dwunastu miesięcy zamrażalniczego przechowywania tej papryki.

Obecność kwasów organicznych ma decydujący wpływ na smak i zapach surowców roślinnych. Zastosowanie nieodpowiednich warunków przechowywania, takich jak zbyt niska temperatura (poniżej 5°C ponad 14 dni) w przypadku owoców ciepłolubnych, do których należy papryka, powoduje występowanie niekorzystnych przemian fizykochemicznych i biologicznych, które przyczyniają się do wzrostu kwasowości ogólnej [23]. W przypadku badanej papryki zaobserwowano prawie dwukrotny wzrost wartości tego parametru, średnio z 0,25 do 0,50 g kwasu jabłkowego/100 g). Pomimo zaobserwowanego wzrostu kwasowość ogólna badanych owoców papryki wynosząca ok. 0,5 % jest poziomem stosunkowo niskim w porównaniu np. z jabłkami [24].



Rys. 1. Zmiany kwasowości miareczkowej w papryce czerwonej i żółtej w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania

Fig. 1. Changes in titratable acidity in red and yellow peppers depending on time period and temperature of freezing storage

Zawartość kwasu L-askorbinowego (KA) w świeżych owocach papryki żółtej i czerwonej przed zamrożeniem i przechowywaniem wynosiła odpowiednio: 238,21 i 200,82 mg/100 g, (tab. 2), a całkowitego kwasu askorbinowego: 272,85 i 288,99 mg/100 g (rys. 2). Oznacza to, że witamina C w świeżej papryce była reprezentowana głównie przez kwas L-askorbinowy, przy czym więcej tego kwasu zawierała papryka żółta, natomiast czerwona była zasobniejsza w całkowity kwas askorbinowy.

W czasie początkowych dwóch tygodni zamrażalniczego przechowywania zarówno w papryce żółtej, jak i w czerwonej, przechowywanych w obu wariantach temperaturowych, nastąpiło gwałtowne zmniejszenie zawartości KA. W następnych tygodniach przechowywania ubytek KA był już niewielki. Pod koniec trwania eksperymentu najmniejszą zawartością KA charakteryzowała się papryka czerwona, przechowywana w temp. -20 °C, natomiast najmniejszy ubytek zawartości KA zaobserwowano w papryce czerwonej przechowywanej w temp. -80 °C (54,99 mg). Końcowa zawartość KA była największa w papryce żółtej, przechowywanej w temp.

-80 °C. Pod koniec składowania straty KA w owocach papryki żółtej i czerwonej przechowywanych w temp. -20 °C wyniosły odpowiednio: 34,8 i 40,4 %, natomiast w temp. -80 °C – 27,4 i 36,7 %.

Tabela 2. Zawartość kwasu L-askorbinowego w papryce czerwonej i żółtej [mg/100 g] w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania

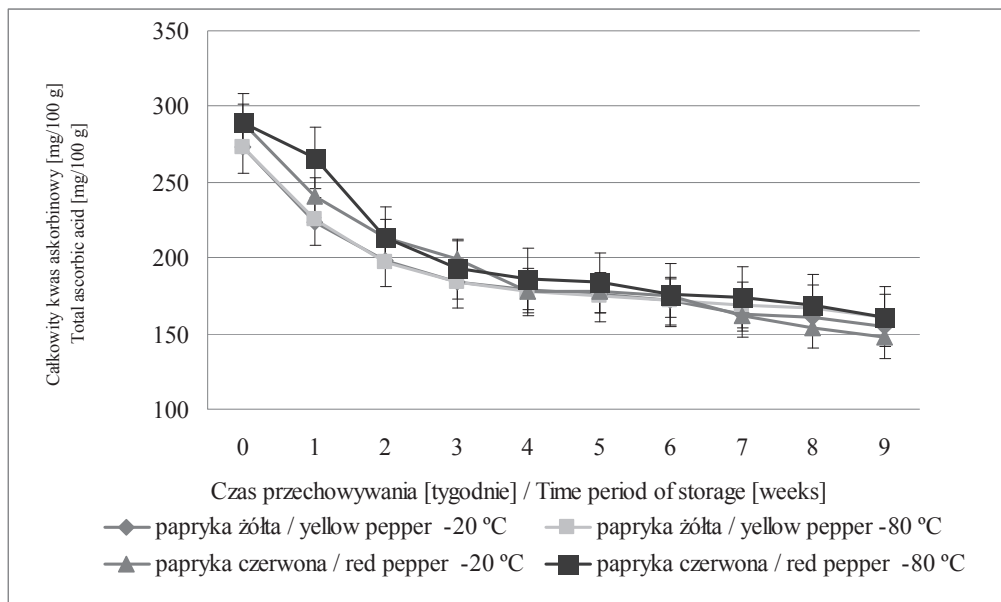
Table 2. Content of L-ascorbic acid in red and yellow peppers [mg/100 g] depending on time period and temperature of freezing storage

Czas przechowywania Time period of storage [tydzień / week]	Temperatura przechowywania / Temperature of storage [°C]			
	-20	-80	-20	-80
	Papryka czerwona / Red pepper		Papryka żółta / Yellow papper	
0	200,82 ^{aA} ± 3,35		238,21 ^{aB} ± 3,36	
1	168,43 ^{b,A} ± 3,30	169,30 ^{b,A} ± 1,68	165,38 ^{b,A} ± 5,01	183,61 ^{b,B} ± 6,68
2	150,91 ^{c,A} ± 2,96	157,27 ^{c,A} ± 5,93	154,50 ^{c,A} ± 4,41	165,72 ^{c,B} ± 2,96
3	146,60 ^{c,A} ± 1,48	154,03 ^{c,B} ± 5,92	151,04 ^{c,A} ± 5,92	163,47 ^{c,B} ± 7,36
4	145,99 ^{c,A} ± 2,86	153,32 ^{c,A} ± 5,58	148,79 ^{c,A} ± 5,72	162,02 ^{c,B} ± 4,30
5	141,41 ^{c,A} ± 4,29	150,88 ^{c,B} ± 3,69	147,44 ^{c,A} ± 1,43	160,53 ^{c,B} ± 5,73
6	139,14 ^{c,A} ± 4,22	150,93 ^{c,B} ± 2,85	145,11 ^{c,A} ± 4,23	156,35 ^{c,B} ± 3,86
7	137,78 ^{c,A} ± 2,81	149,37 ^{c,B} ± 1,40	146,58 ^{c,A} ± 5,64	154,77 ^{c,A} ± 8,44
8	132,60 ^{c,A} ± 4,19	149,38 ^{c,B} ± 2,71	143,69 ^{c,A} ± 4,19	156,11 ^{c,B} ± 2,15
9	130,80 ^{c,A} ± 2,78	145,84 ^{d,B} ± 1,30	141,92 ^{c,A} ± 5,57	150,66 ^{d,B} ± 2,79

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Podobnie jak w przypadku kwasu L-askorbinowego, czas przechowywania miał istotny wpływ na zawartość całkowitego kwasu askorbinowego (KA i KDA) – rys. 2. W początkowym okresie zamrażalniczego przechowywania odnotowano gwałtowne zmniejszenie zawartości KA i KDA, natomiast od czwartego tygodnia tempo zmian było mniejsze. Straty całkowitego kwasu askorbinowego w owocach papryki żółtej i czerwonej przechowywanych w wyższej temperaturze wyniosły odpowiednio: 43,5 i 49,02 %, a w temp. -80 °C – 41,2 i 44,2 %. W przypadku tego parametru nie zaobserwowano statystycznie istotnych zmian wynikających z zastosowania różnych temperatur zamrażalniczego przechowywania papryki.

Porównanie końcowej zawartości KA (130,80 ÷ 150,66 mg/100 g – tab. 2) i sumy KA i KDA (ok. 150 mg/100 g – rys. 2) prowadzi do stwierdzenia, że po zakończeniu doświadczenia udział KA w sumie KA i KDA był dominujący w papryce przechowywanej w obu wariantach temperaturowych, ale jego zawartość była istotnie większa w materiale przechowywanym w temp. -80 °C.



Rys. 2. Zmiany zawartości całkowitego kwasu askorbinowego w papryce czerwonej i żółtej w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania

Fig. 2. Changes in content of total ascorbic acid in red and yellow peppers depending on time period and temperature of freezing storage

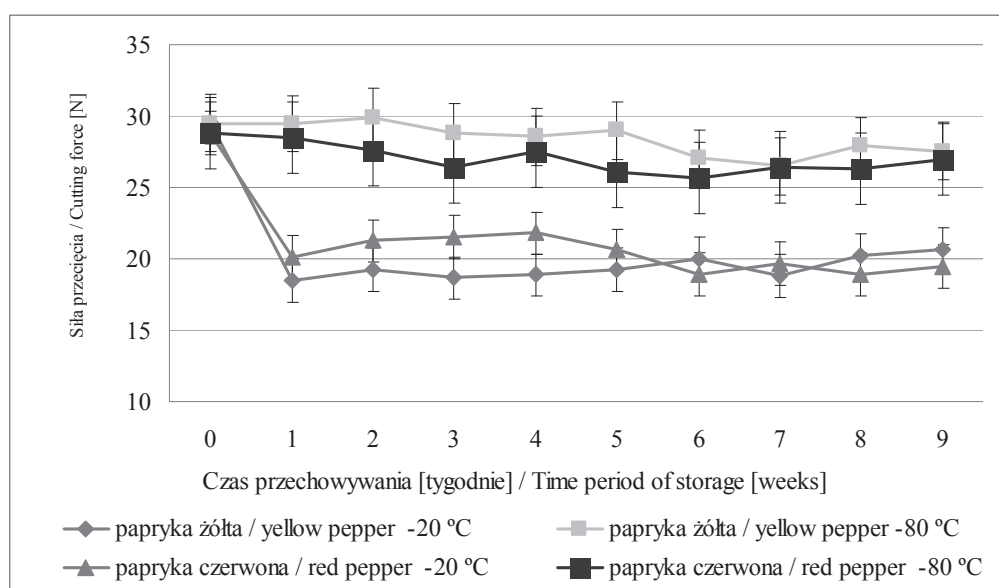
Leong i Oey [9] przeprowadzili badania na kilku gatunkach owoców (morele, czereśnie, brzoskwinie, śliwki, nektarynki i czerwona papryka) i stwierdzili niski ilościowy stosunek KA do KDA. Mogło to wynikać z zachodzącego podczas ekstrakcji procesu utlenienia KA do KDA. Wyjątek stanowiły owoce czerwonej papryki, w których obecność czynników chelatujących lub inhibitorów oksydazy kwasu askorbinowego chroniła przed utlenianiem witaminy C.

Zmiany zawartości witamin w warzywach zależą głównie od czasu i temperatury przechowywania oraz czynników zewnętrznych. Witamina C jest jednym z najmniej trwałych związków, łatwo ulega utlenieniu, rozkłada się także pod wpływem promieniowania ultrafioletowego, w podwyższonej temperaturze oraz w obecności metali ciężkich [2]. Palich i Puksza [16] wykazali istotny ubytek tej witaminy ($30 \div 40\%$ sumy KA i KDA) w okresie 5-miesięcznego przechowywania zielonego groszku i truskawek w różnych wariantach temperaturowych ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ oraz w temperaturze zmiennej $-18 \div -8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Największy ubytek wystąpił podczas przechowywania w temperaturze zmiennej, natomiast najmniejszy – w temperaturze stałej $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Podobne zmniejszenie zawartości całkowitego kwasu askorbinowego ($47 \div 60\%$) odnotowano w ciągu 8 miesięcy zamrażalniczego przechowywania różnych odmian truska-

wek [22]. Niższa temperatura przechowywania sprzyja zachowaniu większych ilości witaminy C, co potwierdzają także badania prowadzone na różnych odmianach kapusty brukselskiej [21].

Zamrażanie w porównaniu z innymi procesami (jak ogrzewanie czy suszenie) powoduje niewielkie ubytki witaminy C w papryce, co potwierdzili Leong i Oey [9]. Do podobnych wniosków doszli Pobereźny i Wszelaczyńska [18], którzy badali zmiany zawartości witaminy C m.in. w papryce czerwonej oraz jej przetworach otrzymanych w wyniku mrożenia i suszenia.

Zapotrzebowanie dorosłego człowieka na witaminę C w zależności od stanu fizjologicznego organizmu waha się w granicach $35 \div 70$ mg na dobę [12]. Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że mimo strat zachodzących podczas zamrażalniczego przechowywania 50 g mrożonej papryki może zapewnić pokrycie dziennego zapotrzebowania organizmu dorosłego człowieka na witaminę C.



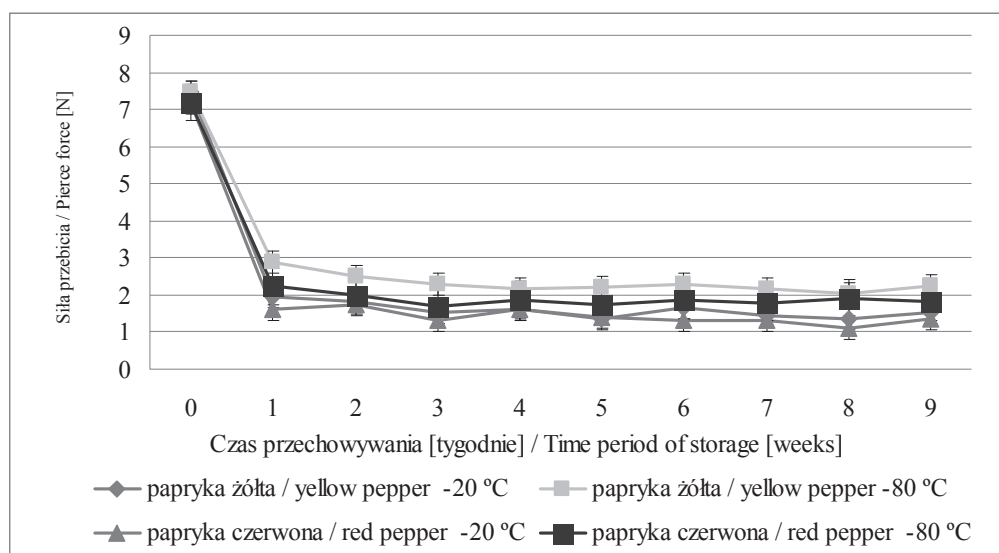
Rys. 3. Zmiany siły potrzebnej do przecięcia owoców papryki czerwonej i żółtej w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania

Fig. 3. Changes in force needed to cut through red and yellow peppers depending on time period and temperature of freezing storage

Paprykę analizowano pod względem tekstury, wykonano test cięcia owoców i przebicia skórki. Wartość siły potrzebnej do przecięcia owoców papryki przechowywanych w temp. -80 °C była stosunkowo stabilna i istotnie wyższa niż użyta w stosunku do papryki przechowywanej w -20 °C (rys. 3). W przypadku papryki przechowywa-

nej w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ wartość tego wskaźnika obniżyła się istotnie w pierwszym tygodniu zamrażalniczego przechowywania. Nie stwierdzono istotnych różnic wartości siły potrzebnej do przecięcia owoców papryki czerwonej i żółtej przechowywanych w tym samym wariancie temperaturowym. Procentowe zmniejszenie siły cięcia papryki czerwonej i żółtej przechowywanej w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ wyniosło odpowiednio: 32,36 i 30,04 %, natomiast papryki składowanej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 6,24 i 6,77 %.

Wyższe wartości siły potrzebnej do przecięcia produktu wskazują na mniejsze uszkodzenia spowodowane przemianą fazową wody w lód. Powstające podczas zamrażania kryształki były mniejsze i nie spowodowały mechanicznego uszkodzenia tkanek w takim stopniu, w jakim miało to miejsce w przypadku wyższej temperatury zamrażania i przechowywania ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Papryka przechowywana w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ po rozmrożeniu była nadal jędrna w przeciwieństwie do papryki przechowywanej w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, która stała się miękka i wiotka.



Rys. 4. Zmiany siły potrzebnej do przebicia skórki owoców papryki czerwonej i żółtej w zależności od czasu i temperatury zamrażalniczego przechowywania

Fig. 4. Changes in force needed to pierce red and yellow peppers depending on time period and temperature of freezing storage

Drugim parametrem umożliwiającym określenie zmian tekstury papryki podczas zamrażalniczego przechowywania był pomiar siły potrzebnej do przebicia skórki owocu. W stosunku do stanu papryki świeżej siła potrzebna do przebicia skórki owoców obu rodzajów papryki gwałtownie zmalała w ciągu pierwszego tygodnia ich zamrażalniczego przechowywania, zarówno w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, jak i w $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (rys. 4). Zmiany

zachodzące w kolejnych tygodniach były już niewielkie. Większe siły potrzebne były do przebicia skórki owoców papryki czerwonej i żółtej przechowywanych w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ niż w $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale tylko w przypadku papryki żółtej wartość tej siły była istotnie zróżnicowana w zależności od temperatury zamrażalniczego przechowywania. Na podstawie analizy wartości siły przebicia skórki papryki żółtej przechowywanej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ stwierdzono różnice statystycznie istotne tylko w pierwszym tygodniu przechowywania. W kolejnych tygodniach parametr ten był stabilny.

Podczas rozmrażania papryki przechowywanej w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ obserwowano niewielki wyciek, który wskazuje na przerwanie ciągłości tkanek owoców. Niekorzystne zmiany związane ze zmniejszeniem jędrności owoców papryki w trakcie przechowywania zaobserwowali także Liu i wsp. [10]. Zmniejszenie jędrności warzyw i owoców podczas przechowywania związane jest m.in. z naturalnymi procesami metabolicznymi – oddychaniem i transpiracją. Zastosowanie niskich temperatur podczas przechowywania skutecznie spowalnia te procesy. Wolak i Kluza [27] potwierdzają korzystny wpływ niskich temperatur przechowywania, a także szybkiego czasu zamrażania na teksturę papryki.

Zmiany chemiczne i biochemiczne w produktach roślinnych podczas zamrażalniczego przechowywania są niewielkie, jednak warunki zamrażania i zamrażalniczego przechowywania mają wpływ na głębokość tych zmian. Wyniki prowadzonych badań wskazują, że w zamrożonych owocach papryki, niezależnie od zastosowanych warunków temperaturowych, największe tempo zmian badanych wskaźników (zawartości kwasu L-askorbinowego i całkowitego kwasu askorbinowego, kwasowości ogólnej oraz parametrów tekstury) miało miejsce w początkowym okresie przechowywania ($1 \div 2$ tygodni). Po zakończeniu eksperymentu wyższą jakością charakteryzowały się owoce papryki zamrożonej i przechowywanej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ niż przechowywane w $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Wnioski

1. Przechowywanie owoców papryki czerwonej i żółtej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ograniczyło w nich wzrost zawartości suchej masy i związany z nim ubytek wody.
2. W obu zastosowanych temperaturach zamrażalniczego przechowywania odnotowano istotne straty kwasu L-askorbinowego oraz całkowitego kwasu askorbinowego, jednak końcowa zawartość kwasu L-askorbinowego w papryce czerwonej i żółtej oraz przechowywanej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ była istotnie większa niż w przechowywanej w $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Kwasowość ogólna papryki czerwonej i żółtej wzrosła istotnie, niezależnie od temperatury zamrażalniczego przechowywania.

4. Stwierdzono ochronny wpływ przechowywania w temperaturze -80°C na stan miąższu owoców, na co wskazują wyższe siły potrzebne do przecięcia owoców papryki przechowywanej w tym wariantcie temperaturowym.

Literatura

- [1] Biggs M., McVicar J., Flowerdew B.: Wielka księga warzyw, ziół i owoców. Dom Wyd. Bellona, Warszawa 2007, ss. 69-71.
- [2] Cieśliewicz J., Grzelakowska A.: Wpływ warunków przechowywania na zawartość witaminy C i karotenoidów w żółtej papryce konserwowej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, 4, 1246-1253.
- [3] Gajewski M.: Przechowalnictwo warzyw. SGGW, Warszawa 2005, ss. 41-52, 70-76, 159-160.
- [4] Gaziński B.: Przechowalnictwo owoców i warzyw. W: Technika chłodnicza dla praktyków – przechowalnictwo żywności. Red. B. Gaziński. Systherm Technik, Poznań 2013, ss. 245-252, 274-280.
- [5] Gonzalez-Castro M.J., Oruna-Concha M.J., Lopez-Hernandez J., Simal-Lozano J.: Effects of freezing on the organic acids content of frozen green beans and Padron peppers. *Zeits. Lebenm. Forsch.*, 1997, 204, 365-368.
- [6] Jarczyk A., Płocharski W.: Technologia produktów owocowych i warzywnych. Wyd. WSHE im. prof. S. Pieniążka, Skierniewice 2010, ss. 108-109.
- [7] Kuczuk A.: Wyniki produkcyjno-ekonomiczne uprawy papryki słodkiej w warunkach ekologicznego systemu produkcji. *J. Res. Appl. Agric. Enging.*, 2011, 56 (3), 243-249.
- [8] Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.: Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. PZWL, Warszawa 1997, ss. 61-62, 73-75.
- [9] Leong S.Y., Oey I.: Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chem.*, 2012, 133, 1577-1587.
- [10] Liu L., Wei Y., Shi F., Liu C., Liu X., Ji S.: Intermittent warming improves postharvest quality of bell peppers and reduces chilling injury. *Postharvest Biol. Technol.*, 2015, 101, 18-25.
- [11] Maalekuu K., Elkind Y., Tuvia-Alkalai S., Shalom Y., Fallik E.: Quality evaluation of three sweet pepper cultivars after prolonged storage. *Adv. Hortic. Sci.*, 2003, 17, 187-191.
- [12] Maćkowiak K., Torliński L.: Współczesne poglądy na rolę witaminy C w fizjologii i patologii człowieka. *Nowiny Lekarskie*, 2007, 76 (4), 349-356.
- [13] Markowska J., Polak E., Kasprzyk I.: Technologie chłodzenia i mrożenia w przetwórstwie żywności. *Przem. Spoż.*, 2014, 68 (9), 10-15.
- [14] Mokrosińska K.: Stężenie jonów wodorowych (pH) i kwasowość miareczkowa. W: Technologia chłodnictwa żywności, składniki pokarmowe i kontrola ich przemian. Red. S. Michałowski. Wyd. PŁ, Łódź 1995, ss. 106-122.
- [15] Mokrosińska K.: Witamina C. W: Technologia chłodnictwa żywności, składniki pokarmowe i kontrola ich przemian. Red. S. Michałowski. Wyd. PŁ, Łódź 1995, ss. 190-209.
- [16] Palich P., Puksza T.: Zmiany zawartości witaminy C mrożonych warzyw i owoców w czasie przechowywania. *Chłodnictwo*, 2001, 36 (7), 43-45.
- [17] PN-EN 12145:2001. Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie całkowitej suchej substancji. Metoda grawimetryczna oznaczania ubytku masy w wyniku suszenia.
- [18] Pobereżny J., Wszelaczyńska E.: Wpływ metod konserwacji na wybrane cechy jakościowe owoców i warzyw znajdujących się w handlu detalicznym. *Inż. Aparatura Chem.*, 2013, 2, 92-94.
- [19] Rembiałkowska E., Hallmann E.: Zmiany zawartości związków bioaktywnych w owocach papryki marynowanej z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *J. Res. Appl. Agric. Enging.*, 2008, 53 (4), 51-57.
- [20] Rydzikowski T., Michalska-Požoga I.: Wpływ pakowania (MAP) na trwałość i zmiany przechowalnictwa świeżej rozdrobnionej papryki czerwonej. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2014, 1, 29-33.
- [21] Sikorska-Zimny K., Badełek E.: Zmiany zawartości witaminy C w czasie przechowywania dwóch odmian kapusty brukselskiej Ajax F1 i Louis F1. *Zesz. Nauk. Inst. Ogrod.*, 2014, 22, 121-127.
- [22] Skupień K.: Ocena wybranych cech jakościowych świeżych i mrożonych sześciu odmian truskawki. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 2003, 2 (2), 115-123.

- [23] Sobkowicz G.: Towaroznawstwo i przechowywalność produktów rolnych. Wyd. AR, Wrocław 1995, ss. 9-17.
- [24] Suszyńska J.: Kwasowość owoców odmian jabłoni w okresie największej podaży dla przetwórstwa. Zesz. Nauk. Inst. Sad. Kwiac., 2007, 15, 109-116.
- [25] Świątkowska K.: Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego. Wyd. SGGW, Warszawa 2008, ss. 141-143.
- [26] Trajer M., Dyngus M.: Krajowa produkcja, spożycie oraz promocja owoców i warzyw. Biul. Inf. ARR, 2013, 6 (3), 19-21.
- [27] Wołak S., Kluza F.: Ocena tekstury zamrażanej papryki słodkiej wynikająca z wartościowania testów cięcia i wycieku rozmrażalniczego. Chłodnictwo, 2002, 37 (1), 42-43.
- [28] Wójcik-Stopczyńska B., Baczyńska A.: Zmiany zawartości niektórych składników bulw podczas przechowywania w szafie chłodniczej. Ziemiak Polski, 2014, 1, 33-38.
- [29] Zalega J., Szostak-Węgierek D.: Żywność w profilaktyce nowotworów. Cz. I. Polifenole roślinne, karotenoidy, błonnik pokarmowy. Probl. Hig. Epidemiol., 2013, 94 (1), 41-49.

EFFECT OF FROZEN STORAGE ON CONTENT OF VITAMIN C AND SOME SELECTED FEATURES OF SWEET PEPPERS (*CAPSICUM ANNUUM L.*)

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of time period (9 weeks) and frozen storage temperatures (-20 °C and -80 °C) on the content of some selected ingredients (L-ascorbic acid – LAA, the total of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid - LAA and DHAA, and dry matter), general acidity, and texture of sweet peppers (yellow and red) of the 'California' variety. During frozen storage of the whole pepper fruits, a gradual increase was reported in the content of dry matter. It varied significantly depending on the time period and storage temperature. In the peppers stored at -80 °C, the final content of dry matter was significantly lower than that in the fruits stored at -20 °C. The increase in the content of dry matter in the fruits of yellow and red pepper stored at a lower temperature was 6.8 % and 9.3 %, respectively; as for the second variant of a higher temperature, the increase in the content of dry matter was significantly higher and amounted to 14.8 % (red peppers) and 17 % (yellow peppers). Those results prove a lower loss of water in pepper fruits stored at a lower temperature. A decrease was reported in the content of L-ascorbic acid and in the total of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid; that decrease was the highest during the initial period of storage. After the experiment was accomplished, the average losses of L-ascorbic acid in the red peppers stored at temperatures of -80 °C and -20 °C were 37 % and 41 %, respectively, while in the yellow peppers: 28 % and 35 %. The decrease in the total of LAA and DHAA in red the peppers stored at temperatures of -80 °C and -20 °C was 49 % and 56 %, respectively, while in the yellow peppers: 41 % and 43 %. The final content of the total acidity in the peppers stored at the two temperatures was similar, but a significantly higher content of L-ascorbic acid was found in the fruits of the two types of peppers stored at a temperature of -80 °C. As for yellow peppers stored at the two storing temperature variants, their total acidity increased ca. twice from 0.26 to 0.49 mg/100g of malic acid. As for the red peppers stored at temperatures of -20 and -80 °C, their total acidity rose from 0.25 to 0.54 and to 0.52 mg/100g of malic acid, respectively. The acidity value changed irrespective of the applied temperature of frozen storage. The texture of peppers changed in particular during the first week of the frozen storage. Those changes were more intense in the fruits stored at -20 °C.

Key words: frozen pepper, vitamin C, dry matter, acidity, texture ☒

KATARZYNA DYJAK, EWA MICHOTA-KATULSKA, MAGDALENA ZEGAN

PILOTAŻOWE BADANIA POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W WYBRANYCH ŚWIEŻYCH ZIOŁACH I WARZYSWACH PRZYPRAWOWYCH ZAKUPIONYCH W KRAJOWYCH SUPERMARKETACH

Streszczenie

Obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów doprawianiem potraw świeżymi ziołami, spożywanych nie tylko ze względów smakowych, ale również z uwagi na ich walory prozdrowotne. Uznano za celowe przeprowadzenie pilotażowej oceny wybranych świeżych ziół i warzyw przyprawowych zakupionych w krajowych supermarketach poprzez ustalenie w nich zakresu jakościowego pozostałości pestycydów – w aspekcie ich dopuszczalności oraz zawartości w odniesieniu do ustalonych wartości NDP (Najwyższej Dopuszczalnej Pozostałości). Próbkę bazylii, koperku, natki pietruszki, szczypiorku, melisy, lubczyku, kolendry oraz mięty poddano analizie chromatograficznej w laboratorium Polskiego Centrum Akredytacji. Wykazano, że 91,7 % próbek zawierało w swoim składzie pozostałości środków ochrony roślin, w tym w dwóch próbkach stwierdzono przekroczenia dopuszczalnej wartości NDP, a także niezgodność w wykorzystaniu pestycydów z obowiązującymi regulacjami prawnymi. Wskazuje to na konieczność stałego monitorowania pozostałości pestycydów w surowcach roślinnych, w tym w świeżych ziołach i warzywach przyprawowych. Celem sformułowania bardziej szczegółowych wniosków, a także określenia zależności pomiędzy obecnością danego pestycydu a gatunkiem świeżego zioła oraz miejscem jego zakupu konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań obejmujących większą liczbę prób. Prowadzenie tego rodzaju badań ma szczególnie istotne znaczenie ze względu na bezpieczeństwo zdrowotne konsumenta. Wydaje się jednak, że korzyści wynikające ze spożywania świeżych ziół w zwyczajowych ilościach są bardziej istotne niż ryzyko, jakie niesie ze sobą ich zanieczyszczenie pozostałościami pestycydów (na poziomie wykazanym w badaniach własnych).

Słowa kluczowe: środki ochrony roślin, świeże zioła, pozostałości w żywności, pestycydy

Wprowadzenie

Pestycydy należą do różnorodnych grup związków chemicznych, zarówno syntetycznych, jak i naturalnych, a powszechność ich stosowania wiąże się z rozległym

*Mgr K. Dyjak, dr inż. E. Michota-Katulaska, dr inż. M. Zegan, Zakład Żywnienia Człowieka, Wydz. Nauki o Zdrowiu, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Żwirki i Wigury 61, 00-001 Warszawa.
Kontakt: kchmiel57@wp.pl*

zakresem ich działania [16]. Dzięki pestycydom można wpływać się na jakość i bezpieczeństwo żywności, m.in. poprzez unieszkodliwianie chwastów i szkodników, a także poprzez zmniejszenie ryzyka zachorowania na choroby, które są przenoszone przez gryzonie [12]. Korzystanie z pestycydów, w tym środków ochrony roślin, nie może być jednak bezkrytyczne, ponieważ dowiedziono negatywnego wpływu tych związków na zdrowie i życie człowieka [8, 27]. Środki ochrony roślin dostają się do organizmu różnymi drogami m.in. pokarmową, oddechową, przez skórę i, o ile jednocześnie narażenie na niewielką dawkę może nie wywołać w organizmie niekorzystnych skutków, o tyle przewlekła ekspozycja powoduje kumulację i może okazać się w przyszłości zagrożeniem dla człowieka [12]. O pozostałościach pestycydów w roślinach decyduje niewłaściwe ich stosowanie przez rolników, w tym używanie nadmiernych ilości bądź nieprzestrzeganie okresów karencji.

Obecnie obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów doprawianiem potraw za pomocą świeżych ziół i warzyw przyprawowych, które spożywane są także ze względu na ich walory prozdrowotne [2, 23]. Konieczne jest więc monitorowanie zawartości pestycydów zwłaszcza w zielonych częściach roślin.

Celem pracy była pilotażowa ocena 8 świeżych ziół i warzyw przyprawowych: bazylii, koperku, szczypiorku, natki pietruszki, melisy, lubczyku, kolendry i mięty, zakupionych w krajowych supermarketach – poprzez ustalenie w nich zakresu jakościowego pozostałości pestycydów w kontekście ich dopuszczalności oraz zawartości w odniesieniu do ustalonych NDP.

Materiał i metody badań

Oznaczenia pozostałości środków ochrony roślin w wybranych świeżych ziołach zlecono do wykonania w laboratorium, które uzyskało certyfikat Polskiego Centrum Akredytacji, będący potwierdzeniem spełnienia wymagań PN-EN ISO/IEC 17025:2005 [17]. Badania zostały przeprowadzone na przełomie marca i kwietnia 2015 r. jako badanie pilotażowe, aby wyeliminować wady w zasadniczej procedurze badawczej i skonstruować poprawny plan badania głównego. Kryterium włączenia stanowił rodzaj produktu, a także miejsce zakupu w lokalizacji miejskiej. Analizie poddano świeże zioła i warzywa przyprawowe: bazylię, koperek, natkę pietruszki, szczypiorek, melisę, lubczyk, kolendrę oraz miętę. Po przeanalizowaniu danych literaturowych [1, 3, 10, 31] oraz wytycznych zawartych w aktach prawnych [25, 33, 34] pobrano po 4 próbki każdego surowca z trzech supermarketów. Miejsca zakupu zakodowano jako próbki numer: 1, 2, 3, gdzie 1 – oznacza produkty z supermarketu 1. (bazylia, koperek, natka pietruszki, szczypiorek), 2 – produkty z supermarketu 2. (bazylia, melisa, lubczyk, kolendra), 3 – produkty z supermarketu 3. (bazylia, szczypiorek, mięta, koperek). Łącznie pobrano 12 próbek. Produkty były analizowane pod względem obecności (analiza jakościowa) i zawartości (analiza ilościowa) pestycydów.

Oznaczano:

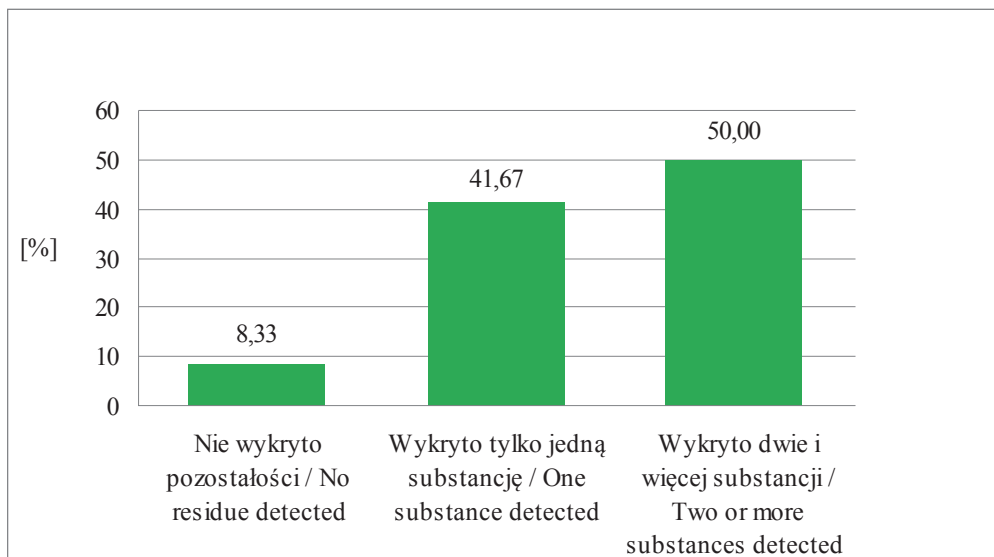
- 1) pozostałości ditiokarbaminianów i disiarczku tiuramu metodą GC/FPD według PN-EN 12396-2:2002 [18],
- 2) pozostałości pestycydów z wykorzystaniem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas przy użyciu GC/MS – MS – B według PN-EN 15662:2008 [19],
- 3) pozostałości pestycydów z wykorzystaniem chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas przy użyciu LC – MS/MS – D według PN-EN 15662:2008 [20].

Jako rozpuszczalnika do ekstrakcji próbek używano acetonitrylu. Otrzymany ekstrakt poddawano analizie chromatograficznej. W celu przeprowadzenia analizy pestycydów (innych niż ditiokarbaminiany) używano chromatografu gazowego z detektorem masowym Agilent (GS/MS) (Agilent, USA) oraz chromatografu cieczowego Agilent z podwójnym detektorem masowym (LC-MS/MS) (Agilent, USA). Do oznaczania ditiokarbaminianów stosowano chromatograf gazowy Agilent wyposażony w detektor fotopłomieniowy (FPD), który charakteryzował się zdolnością wykrywania siarki oraz detektor wychwytu elektronów – μ ECD. Pozostałości środków ochrony roślin zostały oznaczone jako ogólna suma ditiokarbaminianów wyrażonych w przeliczeniu na zawartość disiarczku węgla (CS_2). Za granicę oznaczalności przyjęto 0,050 mg/kg w przeliczeniu na CS_2 . Otrzymane wyniki porównano z wartościami NDP określonymi w Rozporządzeniu WE Nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. z późniejszymi zmianami [24, 26]. Poprawność stosowania danego środka ochrony roślin w poszczególnych uprawach została zweryfikowana na podstawie wykazu środków dozwolonych do stosowania, zamieszczonego na stronie internetowej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi [11].

Uzyskane wyniki opracowano przy użyciu programu Microsoft Excel 2010 (Microsoft). Z uwagi na badanie pilotażowe i związaną z tym ograniczoną liczbę badanych próbek nie przeprowadzono analizy statystycznej.

Wyniki i dyskusja

Badaniami objęto świeże zioła i warzywa przyprawowe: bazylię, koperek, natkę pietruszki, szczypiorek, melisę, lubczyk, kolendrę oraz miętę. Spośród przebadanych próbek tylko w jednej nie wykryto pozostałości pestycydów: był to koperek 3, co stanowiło łącznie 8,3 %. W pozostałych próbkach wykryto jedną lub więcej substancji (rys. 1).



Rys. 1. Rozkład próbek, w których wykryto pozostałości pestycydów (n = 12)

Fig. 1. Distribution of samples with detected pesticide residues (n = 12)

Tabela 1. Zawartość pozostałości pestycydów w ziołach i warzywach przyprawowych

Table 1. Content of pesticide residues in herbs and seasoning vegetables

Nazwa produktu Name of product	Nazwa pestycydu Name of pesticide	Zawartość pestycydu Content of pesticide [mg/kg]	NDP / MRL [mg / kg]
Bazylia 1 Basil 1	Azoksystrobina Azoxystrobin	1,702	70
	BAC Benzalkoniumchloride	0,021	0,1
	Spinosad	0,026	10
	Boskalid / Boscalid	0,010	50
	Difenokonazol Difenoconazole	0,046	2
Bazylia 2 Basil 2	Azoksystrobina Azoxystrobin	0,62	70
	Acetamipryd Acetamiprid	0,44	3
	Propamocarb	0,009	30
Bazylia 3 Basil 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	> 2,00	brak / none
	Permetryna Permethrin	0,160	0,05

Koperek 1 Dill 1	Propamokarb Propamocarb	0,006	0,05
	Azoksystrobina Azoxystrobin	0,290	0,3
	Tebukonazol Tebuconazole	0,103	1,5
	Spiroksyamina Spiroxamine	0,021	0,1
	Chlorpyrifos	0,206	5
	Pendimetalina Pendimethalin	0,174	0,1
	Difenokonazol Difenoconazole	0,038	0,3
Natka pietruszki 1 Parsley 1	Linuron	0,015	1
	Azoksystrobina Azoxystrobin	46,9	70
	Mepanipirym	0,045	0,02
	Pirimikarb Pirimicarb	0,713	5
	Chlorpyrifos	0,020	0,05
	Difenokonazol Difenoconazole	26,1	10
	Deltametryna Deltamethrin	0,786	0,5
Szczypiorek 1 Dill 1	Azoksystrobina Azoxystrobin	0,310	70
	Difenokonazol Difenoconazole	0,018	2
	BAC Benzalkoniumchloride	0,015	0,1
	Pendimetalina Pendimethalin	0,025	0,6
Szczypiorek 3 Dill 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	0,021	brak / none
Melisa 2 Lemon Balm 2	BAC Benzalkoniumchloride	0,067	0,1
Lubczyk 2 Lovage 2	Azoksystrobina Azoxystrobin	0,022	70
Kolendra 2 Coriander 2	Flonikamid Flonicamid	0,027	0,05
Mięta 3 Mint 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	0,180	brak / none

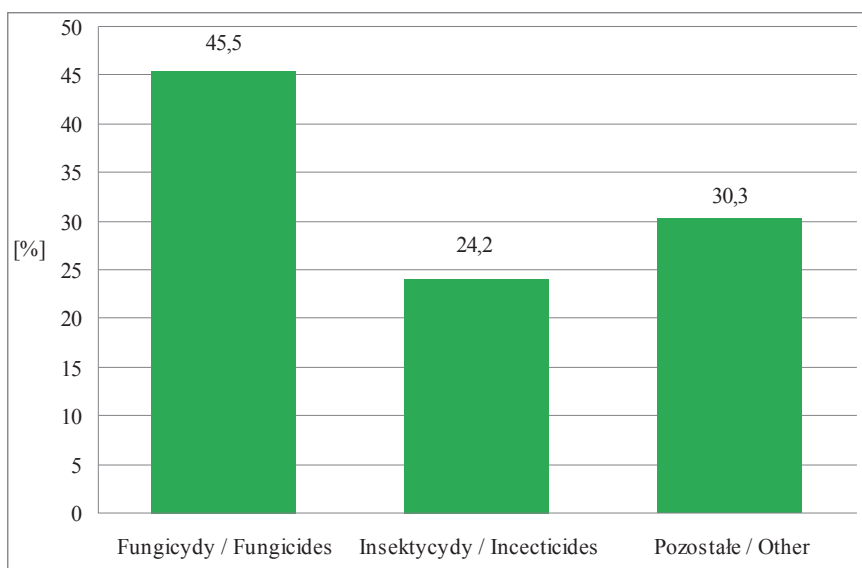
Objaśnienia / Explanatory notes:

NDP – Najwyższa Dopuszczalna Pozostałość / MRL – Maximum Residue Limit; n = 11

Wśród analizowanych próbek ziół stwierdzono obecność 18 substancji aktywnych (tab. 1). W dwóch analizowanych próbkach, czyli w koperku i w natce pietruszki z pierwszego supermarketu stwierdzono przekroczenie NDP. W koperku 1 oznaczone stężenie pendimetaliny wyniosło 0,174 mg/kg przy NDP – 0,1 mg/kg, natomiast w natce pietruszki 1 oznaczone stężenie mepanipiryumu wyniosło 0,045 mg/kg przy NDP – 0,02 mg/kg, difenokonazolu – 26,1 mg/kg przy NDP – 10 mg/kg, deltametryny – 0,786 mg/kg przy NDP – 0,5 mg/kg (tab. 1).

Pod względem zastosowania oznaczonych substancji zaklasyfikowano je do grup: fungicydów, insektycydów, substancji biobójczych stosowanych do dezynfekcji, herbicydów, aficydów i pestycydów synergetyków (rys. 2).

W badaniach wykazano, że w każdym z wybranych supermarketów wystąpiła próbka świeżego zioła lub warzywa przyprawowego zawierająca w składzie pozostałość pestycydu, który nie jest dopuszczony do obrotu w Polsce. W przypadku supermarketu 1. stwierdzono pozostałość niedopuszczonego do obrotu pestycydu w próbce świeżej bazylii 1 (BAC – benzalkoniumchloride) i w szczypiorku 1 (BAC). W supermarkecie 2. pozostałości pestycydów wykazano w próbce melisy 2 (BAC), a w supermarkecie 3. – w próbkach: szczypiorku 3 (piperonylobutoksyd), bazylii 3 (piperonylobutoksyd, permetryna) i mięty 3 (piperonylobutoksyd).



Rys. 2. Udział poszczególnych grup pestycydów wykrytych w badanych próbkach w zależności od zastosowania (n = 11)

Fig. 2. Content of individual groups of pesticides detected in tested samples depending on their usage (n = 11)

Pozostałości pestycydów dopuszczonych do ochrony danej rośliny wykazano jedynie w dwóch analizowanych próbkach roślinnych z supermarketu 1. W przypadku pozostałych próbek wykryto pozostałości pestycydów, które nie są dopuszczone do ochrony danego produktu. Szczegółową analizę pozostałości pestycydów w badanych próbkach pod względem ich dopuszczenia do obrotu w Polsce i ochrony danego produktu przedstawiono w tab. 2. Porównania dopuszczenia danych środków ochrony roślin do stosowania w przypadku konkretnych produktów dokonano na podstawie wykazu środków dozwolonych do stosowania, zamieszczonego na stronie internetowej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi [11].

Tabela 2. Wykaz pozostałości pestycydów wykrytych w przebadanych próbkach i ich dopuszczenie do stosowania w Polsce (n = 11)

Table 2. List of pesticide residues detected in tested samples and their approval for use in Poland (n = 11)

Nazwa produktu Name of product	Nazwa pestycydu Name of pesticide	Dopuszczenie do obrotu w Polsce Approved for use in Poland	Dopuszczenie do ochrony danego produktu Approved for protection of given product
Bazyli 1 Basil 1	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	nie / no
	BAC Benzalkoniumchloride	nie / no	nie / no
	Spinosad	tak / yes	nie / no
	Boskalid / Boscalid	tak / yes	tak / yes
	Difenokonazol Difenoconazole	tak / yes	nie / no
Bazyli 2 Basil 2	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	nie / no
	Acetamipryd Acetamiprid	tak / yes	nie / no
	Propamocarb	tak / yes	nie / no
Bazyli 3 Basil 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	nie / no	nie / no
	Permetryna / Permethrin	nie / no	nie / no
Koperek 1 Dill 1	Propamokarb Propamocarb	tak / yes	nie / no
	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	nie / no
	Tebukonazol Tebuconazole	tak / yes	nie / no
	Spiroksamina Spiroxamine	tak / yes	nie / no
	Chlorpiryfos	tak / yes	nie / no
	Pendimetalina Pendimethalin	tak / yes	nie / no
	Difenokonazol Difenoconazole	tak / yes	nie / no

Natka pietruszki 1 Parsley 1	Linuron	tak / yes	nie / no
	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	nie / no
	Mepanipirym	tak / yes	nie / no
	Pirymikarb / Pirimicarb	tak / yes	nie / no
	Chlorpiryfos	tak / yes	nie / no
	Difenokonazol Difenoconazole	tak / yes	nie / no
	Deltametryna Deltamethrin	tak / yes	nie / no
Szcypiorek 1 Dill 1	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	tak / yes
	Difenokonazol Difenoconazole	tak / yes	tak / yes
	BAC Benzalkoniumchloride	nie / no	nie / no
	Pendimetalina Pendimethalin	tak / yes	nie / no
Szcypiorek 3 Dill 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	nie / no	nie / no
Melisa 2 Lemon Balm 2	BAC Benzalkoniumchloride	nie / no	nie / no
Lubczyk 2 Lovage 2	Azoksystrobina Azoxystrobin	tak / yes	nie / no
Kolendra 2 Coriander 2	Flonikamid Flonicamid	tak / yes	nie / no
Mięta 3 Mint 3	Piperonylobutoksyd Piperonyl butoxide	nie / no	nie / no

Zaobserwowano tendencję pomiędzy ilością substancji aktywnych a miejscem zakupu analizowanych próbek świeżych ziół i warzyw przyprawowych. Najbardziej zanieczyszczone pozostałościami pestycydów były próbki pobrane z supermarketu 1., najmniej – z supermarketu 3. Wykazano, że występowały różnice pomiędzy liczbą substancji aktywnych oznaczonych w próbkach poszczególnych świeżych ziół. Najwięcej substancji aktywnych oznaczono w próbkach warzyw przyprawowych: w koperku i w natce pietruszki.

Przeprowadzone badania pilotażowe miały na celu określenie pozostałości pestycydów w świeżych ziołach i warzywach przyprawowych zakupionych w trzech wybranych supermarketach. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że 91,67 % próbek zawierało w składzie pozostałości pestycydów. Podczas urzędowej kontroli obecności środków ochrony roślin przeprowadzonej przez zespół ekspertów w 2011 r. pozostałości pestycydów wykazano w 21,7 % badanych próbek [13], natomiast rok później pozostałości pestycydów wykryto w 17 % badanych próbek [14]. W ponownej analizie przeprowadzonej w 2013 r. zaobserwowano znaczny wzrost liczby próbek, w których wykryto obecność pestycydów. Zanieczyszczone próbki stanowiły już

32,4 % [15]. Szpyrka i wsp. [28] w 2012 r. wykazali, że 12 % próbek produktów rolnych pobranych z terenów południowo-wschodniej Polski zawierało w swoim składzie pozostałości środków ochrony roślin. Ponowna analiza w 2013 r. pozwoliła na wykrycie pozostałości pestycydów w 27,9 % próbek [29]. W produktach rolnych pochodzących z regionów Polski południowo-wschodniej w latach 2010 - 2013 Szpyrka [30] wykazał, że 9,1 % wszystkich próbek zanieczyszczonych pestycydami stanowiły zioła. W badaniach własnym grupą pestycydów najczęściej oznaczaną były fungicydy – 45,5 %, natomiast co czwartym oznaczanym środkiem ochrony roślin był insektycyd (24,2 %). Fungicydy dominowały w próbkach pochodzących z krajowej produkcji pierwotnej, przebadanych przez Nowacką i wsp. [13] w 2011 r., gdyż stanowiły 63,9 %, a insektycydy – 32,5 %. Podobne wyniki otrzymano w kolejnych latach: 2012 r. – fungicydy: 73 %, insektycydy i akarycydy: 22,9 % [14], 2013 r. – fungicydy: 66,4 %, insektycydy i akarycydy: 30,3 % [15]. Również w badaniach prowadzonych przez Szpyrkę i wsp. [28, 29] fungicydy występowały jako najczęstsze pozostałości pestycydów. Przeprowadzone badania własne potwierdziły konieczność prowadzenia monitoringu pozostałości pestycydów w żywności, gdyż w przypadku dwóch próbek stwierdzono przekroczenia dopuszczalnych limitów NDP: w próbce koperku 1 oznaczona zawartość pendimetaliny wyniosła 0,174 mg/kg (NDP – 0,1 mg/kg), natomiast w natce pietruszki 1 zawartość mepanipirymu wyniosła 0,045 mg/kg (NDP – 0,02 mg/kg), difenokonazolu – 26,1 mg/kg (NDP – 10 mg/kg), deltametryny – 0,786 mg/kg (NDP – 0,5 mg/kg). Przekroczenie dopuszczalnych poziomów pestycydów wykazały także Nowacka i wsp. [13, 14, 15]: 0,6 % próbek w 2011 r., 0,4 % próbek w 2012 r., 2 % próbek w 2013 r., następnie Szpyrka i wsp. [29] (0,7 % próbek), Łozowicka i wsp. [9] (21,1 %), Pszczolińska i wsp. [22] (1,33 % – chlorpiryfos i diazynon). Na podstawie analizy wybranych surowców roślinnych z województwa lubelskiego przeprowadzonej w 2009 r. przez Mazurkiewicza i Czerneckiego [10] stwierdzono, że aż 94,5 % badanych próbek było zanieczyszczonych pestycydami, z czego 61,5 % stanowiły próbki z pozostałościami przekraczającymi NDP. Przekroczeń NDP nie stwierdzili: Kucharski i Domaradzki [7] (w latach 2000 – 2008), Głodek i wsp. [4, 5] (w latach 2005 – 2008), Podbielska i wsp. [21] (w latach 2011 – 2013), Szpyrka i wsp. [28] (w 2012 r.) oraz Wanwimolruk i wsp. [32]. Badania własne wskazują na konieczność prowadzenia stałego monitoringu używanych środków ochrony roślin, gdyż w każdym z analizowanych supermarketów wystąpiła próbka świeżego zioła lub warzywa uprawowego zawierająca w składzie pozostałość pestycydu, który nie został dopuszczony do użycia w Polsce. Były to: supermarket 1. – bazylia 1 (BAC), szczypiorek 1 (BAC), supermarket 2. – melisa (BAC), supermarket 3. – szczypiorek 3 (piperonylobutoksyd), bazylia 3 (piperonylobutoksyd, permetryna), mięta 3 (piperonylobutoksyd). Pozostałości pestycydów dopuszczonych do ochrony danego produktu wykazano jedynie w dwóch analizowanych próbkach z supermarketu 1.: w bazylii 1 – boskalid

i w szczypiorku 1 – azoksystrobinę i difenokonazol. W pozostałych próbkach oznaczono pozostałości pestycydów, które nie są dopuszczone do ochrony danego produktu. Urzędowa kontrola pozostałości pestycydów w płodach rolnych pobranych na terenie całego kraju, prowadzona w latach 2011 – 2013, wykazała, że co roku, pomimo stałego monitoringu, w produktach rolnych można wykryć pestycydy niedozwolone: w 2011 r. – 2,5 % próbek, w 2012 r. – 2,2 % próbek, w 2013 r. – 6,5 % próbek [13 - 15]. W badaniach Gnusowskiego [6], prowadzonych w 2010 r., problem obecności niedozwolonych środków ochrony roślin dotyczył 0,7 % próbek – 1 próbka otrąb pszennych zawierała pozostałości malationu. W 2013 r. na płodach rolnych pochodzących z południowo-wschodniej Polski Szpyrka [29] wykazał obecność niedozwolonego pestycydu – bifentryny w 2 próbkach: jabłek i kapusty pekińskiej. W próbkach pobranych w latach 2011 - 2012 z terenu województwa opolskiego i śląskiego wykryto trzy substancje aktywne środków ochrony roślin, które były niedopuszczane do stosowania w przypadku danych produktów (marchew: propikonazol, diazynon 2011 r., seler: chlorpiryfos 2012 r.) [22].

Wnioski

1. Stwierdzenie pozostałości pestycydów w przebadanych próbkach świeżych ziół i warzyw przyprawowych, ze szczególnym zwróceniem uwagi na przekroczenia najwyższych dopuszczalnych pozostałości, a także obecność w zdecydowanej większości próbek substancji czynnych niedopuszczonych do stosowania w Polsce lub ochrony danego gatunku rośliny, zwraca uwagę na konieczność stałego monitoringu tych produktów, zwłaszcza sprzedawanych w supermarketach, w aspekcie występowania w nich tego rodzaju zanieczyszczeń.
2. Celem sformułowania bardziej szczegółowych wniosków, a także określenia zależności pomiędzy obecnością danego pestycydu a gatunkiem świeżego zioła lub warzywa przyprawowego oraz miejscem jego zakupu konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań obejmujących większą liczbę prób. Prowadzenie tego rodzaju badań ma istotne znaczenie ze względu na bezpieczeństwo zdrowotne konsumenta. Tym niemniej zgodnie z obecnym stanem wiedzy wydaje się, że korzyści zdrowotne, a także sensoryczne wynikające ze spożycia świeżych ziół i warzyw przyprawowych w zwyczajowych ilościach przekraczają ryzyko, jakie niesie ze sobą zanieczyszczenie ich pozostałościami pestycydów.

Literatura

- [1] Akoto O., Andoh H., Darko G., Eshun K., Osei-Fosu P.: Health risk assessment of pesticides residue in maize and cowpea from Ejura, Ghana. *Chemosphere*, 2013, 92 (1), 67-73.
- [2] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.: Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, 46, 446-475.

- [3] Chen M.F., Chen J.F., Syu J.J., Pei C., Chien H.P.: Insecticide residues in head lettuce, cabbage, Chinese cabbage, and broccoli grown in fields. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62 (16), 3644-3648.
- [4] Głodek E., Ślęczka J., Rudy M., Gil M.: Pozostałości pestycydów chloroorganicznych w ziarnie pszenicy i ryżu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010, 4, 539-544.
- [5] Głodek E., Ślęczka J., Rudy M., Gil M.: Badania pozostałości pestycydów chloroorganicznych w nektarynkach i brzoskwiniach przeprowadzone na rynku podkarpackim w latach 2005-2008. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010, 4, 545-550.
- [6] Gnusowski B., Nowacka A., Rzeszutko U., Jurys J., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Szpyrka E., Rogozińska K., Rupar J., Machowska A., Słowik-Borowiec M., Kuźmenko A., Szala J.: Badania pozostałości środków ochrony roślin w paszach pochodzenia roślinnego w roku 2010. *Post. Ochr. Roślin*, 2012, 52 (1), 119-122.
- [7] Kucharski M., Domaradzki K.: Pozostałości herbicydów w wybranych roślinach uprawnych – badania z lat 2000-2008. *Fragm. Agron.*, 2009, 26 (4), 74-80.
- [8] Kwiatkowska M., Jarosiewicz P., Bukowska B.: Glifosat i jego preparaty – toksyczność, narażenie zawodowe i środowiskowe. *Medycyna Pracy*, 2013, 64 (5), 717-729.
- [9] Łozowicka B., Kaczyński P., Jankowska M., Rutkowska E., Hrynko I.: Pesticide residues in raspberries (*Rubus idaeus* L.) and dietary risk assessment. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.*, 2012, 5 (3), 165-171.
- [10] Mazurkiewicz J., Czernecki T.: Zawartość pozostałości pestycydów chloroorganicznych w wybranych mrożonych warzywach z rynku lubelskiego. *Acta Agrophysica*, 2011, 17 (1), 151-163.
- [11] Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. [on line]. Dostęp w Internecie [11.11.2015]: <http://www.minrol.gov.pl>
- [12] Mruczyk K.: Badania poziomu pozostałości pestycydów w roślinnych produktach spożywczych pochodzących z terenu województwa lubuskiego. *Nauka Przyr. Technol.*, 2012, 6 (2), 1-9.
- [13] Nowacka A., Gnusowski B., Walorczyk S., Drożdżyński D., Raczkowski M., Hołodyńska A., Frąckowiak D., Wójcik A., Ziółkowski A., Przewoźniak M., Swoboda W., Rzeszutko U., Domańska I., Jurys J., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Hrynko I., Szpyrka E., Rupar J., Rogozińska K., Kurdziel A., Słowik-Borowiec M., Szala J., Szponik M., Michel M.: Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (rok 2011). *Post. Ochr. Roślin*, 2012, 52 (4), 1106-1116.
- [14] Nowacka A., Gnusowski B., Walorczyk S., Drożdżyński D., Raczkowski M., Hołodyńska-Kulas A., Frąckowiak D., Wójcik A., Ziółkowski A., Przewoźniak M., Swoboda W., Rzeszutko U., Domańska I., Pszczolińska K., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Hrynko I., Szpyrka E., Rupar J., Rogozińska K., Kurdziel A., Słowik-Borowiec M., Szala J., Szponik M.: Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (rok 2012). *Prog. Plant Prot.*, 2014, 54 (2), 219-230.
- [15] Nowacka A., Gnusowski B., Walorczyk S., Drożdżyński D., Raczkowski M., Hołodyńska A., Frąckowiak D., Ziółkowski A., Przewoźniak M., Rzeszutko U., Domańska I., Pszczolińska K., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Hrynko I., Szpyrka E., Rupar J., Matyaszek A., Kurdziel A., Podbielska M., Słowik-Borowiec M., Szponik M.: Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (rok 2013). *Prog. Plant Prot.*, 2015, 55 (4), 423-439.
- [16] Piotrowski J.K.: Podstawy toksykologii. WNT, Warszawa 2006, ss. 319-355.
- [17] PN-EN ISO/IEC 17025:2005. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
- [18] PN-EN 12396-2:2002. Żywność o niskiej zawartości tłuszczu. Oznaczanie pozostałości ditiokarbaminianów i disiarczku tiuramu. Część II: Metoda z wykorzystaniem chromatografii gazowej.
- [19] PN-EN 15662:2008. Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS i/lub LC-MS(MS) po uprzedniej ekstrakcji i rozdziale acetonitrylem oraz oczyszczaniu

- metodą dyspersyjnej SPE. Metoda QuEChERS. z wykorzystaniem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas – Technika GC/MS – MS przy użyciu GC/MS – MS – B.
- [20] PN-EN 15662:2008. Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS i/lub LC-MS(/MS) po uprzedniej ekstrakcji i rozdzieleniu acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE. Metoda QuEChERS z wykorzystaniem chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas – Technika LC – MS/MS przy użyciu LC – MS/MS – D.
- [21] Podbielska M., Szpyrka E., Matyaszek A., Kurdziel A., Rupar J., Słowik-Borowiec M.: Pozostałości ditiokarbaminianów w owocach, warzywach i ziołach z terenu południowo-wschodniej Polski w latach 2011-2013. *Prog. Plant Prot.*, 2014, 54 (3), 293-297.
- [22] Pszczolińska K., Rzeszutko U., Domańska I., Wlazło J., Rolnik J.: Wyniki badań pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych z terenów województw śląskiego i opolskiego w latach 2011-2012. *Post. Ochr. Roślin*, 2013, 53 (3), 582-585.
- [23] Rather I.A., Awasthi P., Mahajan V., Bedi Y.S., Vishwakarma R.A., Gandhi S.G.: Molecular cloning and functional characterization of an antifungal PR-5 protein from *Ocimum basilicum*. *Gene*, 2015, 558 (1), 143-151.
- [24] Rozporządzenie (WE) Nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w żywności i paszy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na ich powierzchni, zmieniające dyrektywę Rady 91/414/EWG. *Dz.U. L 70 z 16.3.2005*.
- [25] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007 r. w sprawie pobierania próbek żywności w celu oznaczania poziomów pozostałości pestycydów. *Dz.U. 2007 nr 207 poz. 1502*.
- [26] Rozporządzenie Komisji (UE) NR 600/2010 z dnia 8 lipca 2010 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do dodania i zmiany przykładów powiązanych odmian lub innych produktów, do których stosuje się te same NDP. *Dz. U. UE. L 174/18*.
- [27] Rzeszutko J., Popek S., Matysiak M., Czajka M., Sawicki K., Kruszewski M., Kapka-Skrzypczak L.: Zmiany epigenetyczne spowodowane ekspozycją na pestycydy. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2014, 95 (3), 561-567.
- [28] Szpyrka E., Kurdziel A., Matyaszek A., Podbielska A., Rupar J., Słowik-Borowiec M.: Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych z terenu południowo-wschodniej Polski (rok 2012). *Post. Ochr. Roślin*, 2013, 53 (2), 402-406.
- [29] Szpyrka E., Kurdziel A., Matyaszek A., Podbielska M., Rupar J., Słowik-Borowiec M.: Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych z terenu południowo-wschodniej Polski (rok 2013). *Prog. Plant Prot.*, 2014, 54 (3), 283-287.
- [30] Szpyrka E.: Assessment of consumer exposure related to improper use of pesticides in the region of southeastern Poland. *Environ. Monit. Assess.*, 2015, 187 (1), 4140-4148.
- [31] Telo G.M., Senseman S.A., Marchesan E., Camargo E.R., Jones T., McCauley G.: Residues of thiamethoxam and chlorantraniliprole in rice grain. *J. Agric. Food Chem.*, 2015, 63 (8), 2119-2126.
- [32] Wanwimolruk S., Kanchanamayoon O., Phopin K., Prachayasittikul V.: Food safety in Thailand 1: It is safe to eat watermelon and durian in Thailand. *Environ. Health Prev. Med.*, 2015, 20 (3), 204-215.
- [33] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007 r. w sprawie sposobu pobierania próbek żywności w celu oznaczania poziomów pozostałości pestycydów oraz procedury stosowane przy pobieraniu próbek. Załącznik nr 1. *Dz. U. 2007 r. Nr 207, poz. 1502*.
- [34] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007 r. (poz. 1502) w sprawie kryteriów dla metod analitycznych, sposób podawania i interpretacji wyników analiz oraz sposoby transportu

i przechowywania próbek przed przystąpieniem do analizy. Załącznik nr 2. Dz. U. 2007. Nr 207, poz. 1502.

PILOT STUDIES ON PESTICIDE RESIDUES IN SELECTED FRESH HERBS AND SEASONING VEGETABLES PURCHASED IN INTERNAL SUPERMARKETS

S u m m a r y

There is an increase in the consumer interest in seasoning dishes with fresh herbs, which are consumed not only for their flavour but, also, because of their health benefits. It was considered advisable to carry out a pilot assessment study on some selected fresh herbs and seasoning vegetables purchased in internal supermarkets by determining the range of quality of pesticide residues in terms of their acceptability and content with respect to the set values of MRLs (Maximum Residue Levels). Samples of basil, dill, parsley, chives, lemon balm, lovage, coriander, and mint were analyzed using chromatography in a laboratory in the Polish Centre for Accreditation. It was shown that 91.7 % of the samples contained residues of plant protection agents; furthermore, in two samples, the content of those residues was reported to exceed MRL (Maximum Residue Limit) and the use of pesticides was found to be incompatible with the legal regulations in force. This fact suggests the indispensability of consistent monitoring of pesticide residues in plant-based foods, particularly in fresh herbs and seasoning vegetables. In order to draw more detailed conclusions as well as to determine the correlation between the occurrence of a given pesticide and the species of fresh herb, and the place of purchasing it, it is essential to carry on further studies using a larger quantity of samples. It is particularly important to conduct this type of research studies in view of the consumer health safety. It seems, however, that the benefits resulting from consuming usual quantities of fresh herbs are more important than the risk posed by their contamination with pesticide residues (at the level as shown in the authors' own studies).

Key words: plant protection agents, fresh herbs, residues in food, pesticides ☒

JOANNA TRAFIAŁEK, FRIEDRICH-KARL LÜCKE,
DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, BEATA BILSKA,
MARZENA TOMASZEWSKA, WIESŁAWA GRZESIŃSKA

ASSESSMENT OF SUPPLIERS IN FOOD BUSINESS: IS THERE A WAY TO ESTIMATE THE RISK?

S u m m a r y

The objective of the study was to develop an easy-to-apply method for assessing the supplier-linked risk in the food business. The method as suggested in the study makes it possible to calculate, using simple mathematical tools, a level of risk involved in the cooperation with a particular supplier. The risk assessment is based on six criteria set for every supplier: type of commodities or products provided by the supplier; period of the cooperation with the supplier; systems applied by the supplier to assure quality and safety; past performance of the suppliers with respect to delayed deliveries, cancelled deliveries, and claimed deliveries owing to improper quality of raw materials. The method developed was validated in three companies: meat plant, dairy plant, and catering facility. A simple method was proposed to assess what risk a particular supplier could bring on the quality and safety of finished food product. This risk assessment method can be applied in different food businesses. The greatest benefit of the method developed consists in its ease of use and functionality. The suggested method can be used by small companies and it does not require any complicated calculations or advanced statistical techniques. The method can be very useful for enterprises; however, it has certain limitations such as knowledge and awareness of its users.

Key words: supplier, risk, risk assessment, food safety, food quality, hazard

Introduction

Risk assessment is a well-established concept in the literature, legal codes, and in the quality management standards. However, there are only a few practical examples

Dr inż. J. Trafiałek, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, dr inż. B. Bilski, dr inż. M. Tomaszewska, dr inż. W. Grzesińska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, prof. dr F.-K. Lücke, University of Applied Sciences, Leipziger Str. 123, 36037 Fulda. Kontakt: joanna_trafialek@sggw.pl

addressing risk assessment at the level of food business operators [10, 26] and in other areas. Based on Regulation (EC) No. 178/2002 [22], the European Food Safety Authority (EFSA) assesses food and feed safety risk on a scientific basis. Therefore, a question arises as to how the representatives of catering businesses and food producers may adopt a similar approach to identify and mitigate the risk associated with their activities.

Despite many food safety campaigns, educational, informative, audit, and certification activities, food poisoning is still a major cause of diseases [9]. Maintaining food safety is connected with understanding the safety risks relevant to various food products and with recognizing the importance of risk mitigation [21]. Risk assessment by EFSA and by other national and international authorities should be based on scientific evidence and should be implemented in an objective, independent and clear way [22]. It focuses on the food safety and, thereby, it helps food business operators analyze the hazards associated with their products and develop systems (preventative measures, including HACCP) to control those hazards. Food business operators are required to carry out a hazard analysis, but various data suggest the adoption of the risk assessment approach by the food industry can perform a very useful function supporting the company's performance and preventing food-borne diseases. The research carried out by Trafialek and Przybylski [26] showed how risk assessment could be used to determine the cancer risk resulting from the intake of heterocyclic amines while consuming heat-treated pork meat. In their study, Trafialek and Pawłowska [25] proved the importance of risk assessment in determining the odds of mistakes committed by employees with insufficient training, and Kołożyn-Krajewska et al. [10] assessed the risk of using probiotics in meat products.

ISO 9004:2009 recommends that risk should be identified and strategies developed to diminish it in order to achieve a long term success in an organization. ISO 9004 emphasises the importance of proven evidence when assessing suppliers, resources, and decision making process.

The suppliers play a significant role in food industry sectors. The quality of the final product is determined by many factors and one of the most important is the quality of raw materials used and the qualifications of suppliers. According to IFS or ISO 22000, each organization should apply procedures to identify, choose and evaluate suppliers in order to guarantee the required quality of the products to be delivered or of raw materials that should meet the expectations of a given organization. Therefore, it is essential to effectively monitor the cooperation with the supplier as well as the quality of the delivered raw materials. Nowadays, food producers and food industry entrepreneurs have many food standards and specifications they must refer to, but they often lack the knowledge to assess the suppliers and to support their development [28]. Those authors suggest using third parties audits and relying on their results. However,

single audits of suppliers are not reliable enough as the mistakes may not be identified. In order to carry out risk assessment on suppliers, auditors need particular knowledge and skills that are different to those needed in the process of certification, where the only aspect checked is whether or not the supplier has an acceptable safety and quality management in place. Powell et al. [20] say that audits and inspections are insufficient to ensure food safety, and stress the importance of a “food safety culture” and risk-based verification steps. Food safety is directly connected with consumer health.

Access to safe and high-quality raw materials plays an important role in producing safe food and, from the economic point of view, it is directly connected with the reliability of suppliers. Linthorst and Telgen [15] suggest that one of the most effective strategies for overcoming the risk of delayed deliveries is the use of many different suppliers. The choice of suppliers is a very important management process in the food business and it requires well-structured operational procedures. Generally, there are two methods of choosing suppliers: “single sourcing”, i.e. one supplier can meet all the needs of the purchaser, and “multiple sourcing” where in order to decrease the risk of non-availability of raw materials, the purchaser buys raw materials from a few suppliers [1]. Cooperating with suitable suppliers decreases the costs and improves competitiveness [17]; thus, the purchase strategy is a critical activity for a company [4].

This paper presents the assessment of suppliers to food processors, who use several suppliers (“multiple sourcing”). In contrast to the study carried by Meena et al. [17], in this study a simple method of assessing suppliers is suggested that does not require advanced mathematical calculations.

The objective of the study was to develop a method of assessing the risk associated with the performance of suppliers and to verify its applicability to some food companies.

Materials and methods

The risk associated with the supplier performance was assessed based on the quality and safety of food products-related criteria. The criteria were obtained from the literature and presented in the chapter presenting the results and discussion. The method of risk assessment was designed, tested, and validated according to the procedure scheme as presented in Fig. 1.

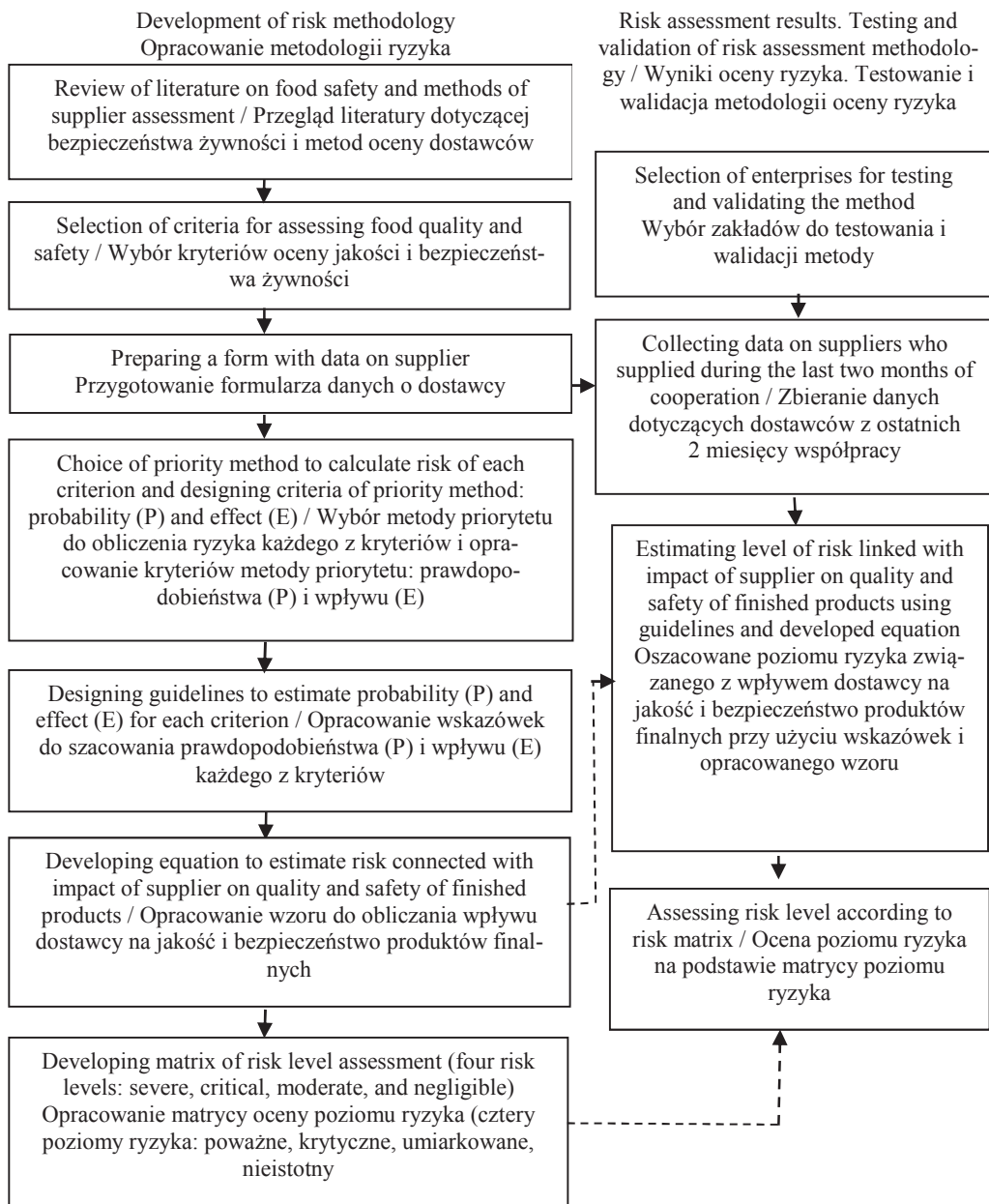


Fig. 1. Risk assessment flowchart

Rys. 1. Schemat postępowania przy ocenie ryzyka

The proposed methodology for risk assessment was applied in three companies and its applicability was tested therein. One of the companies was a medium size (50-249 employees) meat producing company based in Norway; the second one was a big (above 250 employees) dairy plant in Poland; the third one was a small Polish catering business. The factor to determine, which companies should be selected, was the willingness of their managements to cooperate with the scientists and to give researchers access to all the data on their suppliers. In order to assess the risk related to the cooperation with a particular supplier, the companies were asked to collect data on six suppliers so that the motives for their choice of a supplier became evident [8]. Those facts were compiled using standard forms (Tab. 1); the companies were asked to complete them.

Table 1. Form containing data on supplier

Tabela 1. Formularz zawierający dane o dostawcy

Supplier No. / Dostawca nr	Supplied material Dostarczany surowiec
Category of raw material supplied by supplier Kategoria surowca dostawcy: ☐ raw material directly involved in production surowiec bezpośrednio związany z produkcją ☐ raw material indirectly involved in production surowiec pośrednio związany produkcją ☐ raw materials intended to come into contact with food surowiec do kontaktu z żywnością ☐ general raw materials / surowiec ogólny	Years of cooperation with supplier Lata współpracy z dostawcą ☐ 0-2 ☐ 2-4 ☐ 4-6 ☐ 6-8 ☐ above 8 / powyżej 8
Total of all supplies from one supplier within last two months / Suma wszystkich dostaw od jednego dostawcy w ciągu ostatnich dwóch miesięcy.....	
Food safety and quality assurance system and quality management system Systemy zapewnienia bezpieczeństwa i jakości żywności oraz zarządzania jakością ☐ GMP/GHP, HACCP implemented / Wdrożone zasady GMP/GHP, HACCP ☐ ISO 22000 system implemented / Wdrożony system ISO serii 22000 ☐ Management systems implemented / Wdrożone systemy zarządzania	
Number of delayed deliveries from one supplier within two months / Liczba opóźnionych dostaw od jednego dostawcy w ciągu dwóch miesięcy.....	
Number of orders returned to one supplier within two months / Liczba zamówień zwróconych do dostawcy w ciągu dwóch miesięcy	
Number of claimed orders/deliveries from one supplier within two months / Liczba zamówień zareklamowanych od jednego dostawcy w ciągu dwóch miesięcy	

Results and discussion

The smooth functioning of a company and the safety and quality of its products is substantially related to the selected suppliers. Berger et al. [3] studied the risk connected with the activity of suppliers that related to mistakes made by them. Their research

showed that the mistakes made by suppliers could have significant consequences for the enterprise. The quantitative model compared the costs of running a company and the costs caused by mistakes on the part of the suppliers. The results proved that the running costs increased when the number of suppliers increased although the risk of failure in a particular purchasing company decreased where there were more suppliers. [4]. The authors concluded that the cooperation with only one supplier put a company at risk since the production would have to stop due to lack of raw material, whereas cooperating with more suppliers increased the initial and running costs because of the need to manage a larger number of suppliers.

The proposed method of risk assessment is based on estimating 6 criteria related to the performance of a particular supplier and relevant to the quality and safety of products. The criteria were: type of the raw material provided by the supplier; number of years of cooperation with a particular supplier; delayed deliveries; cancelled deliveries; complained deliveries; systems used to assure and manage food quality and safety. In order to get a numerical value of the risk, the commonly employed priority method was applied using the estimated values of probability (P) and effect (E) in the following equation [16]:

$$R_C = P \times E \quad (1)$$

where, as for the criterion C:

R_c – are scores to rank the risk of this one criterion, which means that failures at the supplier level adversely affect the safety and quality of the finished products;

P – are scores to rank the probability that such failures occur at the supplier level;

E – quantifies to what extent those failures affect the quality and safety of finished products.

Probability (P) and effect (E) are determined on the basis of subjective experimental data or archive data from previous period using a 5-level scale (from 1 to 5). The proposed scores for ranking the probability and effects are shown in Tab. 2 and 3.

Tab. 4 shows the guidelines to estimate the probability and the effect.

The overall R risk for product quality and safety as affected by the performance at the supplier level can be calculated by totalling up the risk of each criterion using the following equation:

$$R = \sum_{n=1}^{n=6} R_C \quad (2)$$

where:

R_C is risk of one criterion;

R is the level of the supplier-related risk;

n is the number of suppliers.

Table 2. Levels of probability of adverse effect of criterion on quality and safety of finished products

Tabela 2. Poziom prawdopodobieństwa niekorzystnego wpływu kryteriów na jakość i bezpieczeństwo produktów gotowych

(P) Level of probability Poziom prawdopodobieństwa (P)	Description / Opis
1	Very low, almost impossible / Bardzo małe, prawie niemożliwe
2	Low, insignificant / Małe, nieistotne
3	Mild, medium / Łagodne, średnie
4	High, significant / Duże, istotne
5	Very high, serious / Bardzo duże, poważne

Table 3. Levels of impact of criteria on quality and safety of final products

Tabela 3. Poziom wpływu kryteriów na jakość i bezpieczeństwo produktów gotowych

Levels of impact (E) Poziom wpływu (E)	Impact effects of one criterion / Efekty wpływu jednego kryterium
1	Insignificant: no deterioration in quality and safety of final products, unimportant criterion / Nieistotne: brak pogorszenia jakości i bezpieczeństwa produktów finalnych, kryterium nieważne
2	Noticeable negative impact on quality and safety of products Zauważalny negatywny wpływ na jakość i bezpieczeństwo produktów
3	Significant, possible negative financial consequences, increase in number of claims owing to lack of quality and damage to health of consumers / Istotne możliwe negatywne konsekwencje finansowe, wzrost liczby reklamacji z powodu braku jakości i uszczerbku zdrowia konsumentów
4	Serious loss of quality and safety, financial consequences Poważna utrata jakości i bezpieczeństwa, konsekwencje finansowe
5	Very serious alert notification to be sent to RASFF, death or serious illness of consumer, compensation for consumer, loss of liquidity of company / Bardzo poważne zgłoszenie do system RASFF, śmierć lub poważne zachorowanie klienta, odszkodowanie dla klienta, utrata płynności finansowej firmy

While using the suggested method, the overall risk was assessed on the basis of the matrix of risk assessment and categorized into four risk levels: severe, critical, moderate, and negligible (Fig. 2).

Table 4. Guidelines to estimate probability and effect of criteria on quality and safety of final products
 Tabela 4. Wytyczne do określania prawdopodobieństwa i wpływu kryteriów na jakość i bezpieczeństwo produktów końcowych

Criterion / Kryterium	Description / Opis	P	E	R _C
Category of supplier Kategoria dostawcy	General materials / Surowce ogólne	1	1	1
	Materials in contact with foods Materiały do kontaktu z żywnością	2	2	4
	Indirect raw materials involved in production / Surowce pośrednio związane z produkcją	4	4	16
	Direct raw materials involved in production / Surowce bezpośrednio związane z produkcją	5	5	25
Number of years of cooperation with the supplier Liczba lat współpracy z dostawcą	Above 6 years / Powyżej 6 lat	1	1	1
	4 - 5 years / 4 - 5 lat	2	1	2
	1.5 - 3 years / 1,5 - 3 lat	3	1	3
	0.5 - 1 years / 0,5 - 1 roku	4	1	4
	Up to 0.5 year / Do 0,5 roku	5	2	10
Delayed deliveries (number of delayed deliveries from one supplier / total of all supplies from supplier) × 100 % Dostawy opóźnione (liczba dostaw opóźnionych od jednego dostawcy / suma wszystkich dostaw od dostawcy) × 100 %	0 - 2 %	1	3	3
	2 - 10 %	2	3	6
	10 - 30 %	3	3	9
	30 - 50 %	4	3	12
	50 - 100 %	5	3	15
Outstanding deliveries (number of outstanding orders not delivered by one supplier / total of all supplies from supplier) × 100 % Dostawy niezrealizowane (liczba zamówień niedostarczonych przez jednego dostawcę / suma wszystkich dostaw od dostawcy) × 100 %	0 - 2 %	1	2	2
	2 - 10 %	2	2	4
	10 - 30 %	3	3	9
	30 - 50 %	4	3	12
	50 - 100 %	5	3	15
Complained deliveries (number of complained from one supplier / total of all complained supplies from supplier) × 100 % Dostawy zareklamowane (liczba zareklamowanych dostaw od dostawcy / suma wszystkich dostaw od dostawcy) × 100 %	0 - 5 %	1	5	5
	5 - 10 %	2	5	10
	10 - 20 %	3	5	15
	20 - 50 %	4	5	20
	50 - 100 %	5	5	25
Foods safety and quality assurance systems and management systems Systemy zapewnienia bezpieczeństwa i jakości oraz systemy zarządzania	Lack of GMP/GHP, HACCP Brak GMP/GHP, HACCP	5	5	25
	Lack of ISO 22000 / Brak ISO 22000	2	2	4
	Lack of management systems Brak systemów zarządzania	1	1	1
	Implemented systems according to the forms filled by supplier Wdrożone systemy zgodnie z ankietą wypełnioną przez dostawcę	0	0	0

Value of calculated risk Wartość obliczonego ryzyka ($R_{\min} = 10$, $R_{\max} = 115$)	75 - 115				
	56 - 75				
	41 - 55				
	10 - 40				
		1	2	3	4
		Negligible Nieistotny	Moderate Umiarkowane	Critical Krytyczne	Severe Poważne
		Risk level / Poziom ryzyka			

Fig. 2. Risk estimation matrix

Rys. 2. Matryca szacowania ryzyka

Depending on the overall risk, certain actions towards the suppliers were recommended. In the case of a severe risk, it is necessary to warn the supplier in writing that the cooperation with him is to be terminated and the negotiations with a new supplier should be initiated. It could also result in immediate termination of the agreement with a particular supplier and in replacing the suppliers. When a critical risk is reported, then, enough time should be given in order to more accurately check the incoming goods and indicators of the supplier performance. In addition, it is also advisable to send a written warning to the supplier. When a medium risk level occurs, it is recommended to supervise and monitor the deliveries at the time they are supplied. If the suppliers are classified as those to represent a negligible risk, no special actions are recommended.

Tab. 5 contains data about the suppliers as provided by the companies. Using the guidelines from Tab. 4, the values of probability and effect on the quality and safety of finished products were estimated and Equation 2 was applied to assess the overall risk associated with the particular supplier. The results show that none of the three validated enterprises cooperate with a supplier who could be defined as a severe risk supplier. Most suppliers ranked as representing a moderate or a negligible risk level. Only two suppliers were assessed as being at the critical risk level, namely the suppliers supplying pork and beef meat to the meat processing plant. They delivered large amounts of perishable raw material prone to contamination with zoonotic agents; so, the score assigned to this category was 25. Moreover, the deliveries from the pork supplier frequently caused complaints due to insufficient quality; thus, the score assigned to this category was 20. Pork is especially prone to foodborne hazards such as *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, and *Clostridium perfringens* [19]. Therefore, Wang et al. [29] suggested that the pork deliveries are CCP, even though no 100 % check for the occurrence of pathogenic bacteria is feasible, while Asefa et al. [2] defined it as a Control Point. At any rate, special supervision over those deliveries of such raw materials is compulsory, and a conformity certificate should accompany each shipment of raw pork [29]. Even in small pork processing plants, the application of ISO 22000 is of assis-

tance, when developing effective hazard control methods [19]. According to Leat et al. [13], the cooperation between producers and retailers may cause the vulnerability of the supply chain of pork to decrease.

In the case of the beef suppliers, a high risk was found in two criteria: delayed deliveries and complained deliveries. This fact can be linked to the currently observed trend in Europe where beef consumption gradually decreases and customer concerns about beef quality increases [27]. The beef safety is affected by a possible contamination by pathogens such as *Salmonella*, pathogenic *E. coli* (STEC, EHEC) [23] and it is necessary to implement an effective traceability system [5]. Therefore, in the meat plant, where the research was carried out, the assessed risk related to deliveries of beef of questionable quality was the highest. The suppliers of milk and lamb were ranked as the moderate risk level suppliers and the rest of suppliers were assessed as posing a negligible risk to the quality and safety of finished products.

Risks associated with the suppliers of the dairy plant had only moderate or negligible effects on the quality and safety of products manufactured in this plant. Even the risk related to the supplier of powdered milk (bulk raw material) was found to have little if any negative effect on the quality and safety of the finished products. In its form for suppliers, the above mentioned dairy plant declared to have implemented the ISO 22000 food management safety system; so, the risk associated with deficiencies in the safety management systems was estimated as minimal. The dairy plants in Poland have been paying a lot of attention to the high quality of their products for many years and have implemented systems to assure food safety; this fact beneficially impacted the quality level of their products [11]. The implementation of management systems improves the level of food safety and decreases risks [18].

In the catering facility, except for the supplier who delivered sausages, all the suppliers represented a negligible level of risk. According to the documents provided, all the suppliers of this company implemented the HACCP system and the suppliers of cheese and onions implemented systems of quality management. Soriano et al. [24] showed that the implementation of the HACCP system improves the microbiological quality of meals. Catering facilities, which used an appropriate method to assess risk connected with the suppliers, paid very much attention to the quality of raw materials and carefully chose their suppliers [14].

The management of food safety and quality in companies should begin with identifying risks; next, preventative methods should be developed to control them. Of those methods, the selection of suppliers and the monitoring of their performance is an essential part. In many studies, there are described various methods to assess suppliers. For example, Ghodsypour and O'Brien [7] used "FAHP", a fuzzy analytic hierarchy process, to choose a supplier and they assessed the following criteria: costs, quality,

Table 5. Testing results of risk assessment method in three companies

Tabela 5. Wyniki testowania metody oceny ryzyka w trzech zakładach

Level of probability (P), impact (E), risk of one criterion (R _K) Poziom prawdopodobieństwa (P), wpływu (E), ryzyka jednego kryterium (R _K)	P	E	R _C	P	E	R _C	P	E	R _C	P	E	R _C	P	E	R _C	P	E	R _C
Meat plant / Zakład mięsny																		
Criterion / Supplier Kryterium / Dostawca	Packages Opakowania			Starch Skrobia			Pork Wieprzowina			Milk Mleko			Bee Wołowina			Mutton Baranina		
Category of supplier Kategoria dostawcy	2	2	4	4	4	16	5	5	25	5	5	25	5	5	25	5	5	25
Number of years of cooperation with supplier Liczba lat współpracy z dostawcą	1	1	1	1	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1
Delayed deliveries Dostawy opóźnione	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3	3	3	9	3	3	9
Outstanding deliveries Dostawy niezreal- izowane	1	2	2	1	2	2	2	2	4	1	2	2	1	2	2	1	2	2
Complained deliveries from one supplier Dostawy zareklamowane od jednego dostawcy	1	5	5	1	5	5	4	5	20	2	5	10	4	5	20	1	5	5
Foods safety and quality assurance and manage- ment systems Zapewnienie bezpie- czeństwa i jakości oraz systemy zarządzania	2	2	4	2	2	4	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2
Risk level (R) Poziom ryzyka (R)	19 Negligible Nieistotny			31 Negligible Nieistotny			58 Critical Krytyczny			46 Moderate Umiarkowany			61 Critical Krytyczny			46 Moderate Umiarkowany		
Dairy plant / Zakład mleczarski																		
Criterion / Supplier Kryterium / Dostawca	Lids 1 Wieczka 1			Lids 2 Wieczka 2			Cups 1 Kubki 1			Cups 2 Kubki 2			Sugar Cukier			Powdered milk Mleko w proszku		
Category of supplier Kategoria dostawcy	2	2	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	5	5	25	5	5	25
Number of years of cooperation with supplier Liczba lat współpracy z dostawcą	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	5	2	10

Delayed deliveries Dostawy opóźnione	3	3	9	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3
Outstanding deliveries Dostawy niezrealizowane	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2
Complained deliveries from one supplier Dostawy zareklamowane od jednego dostawcy	3	5	15	1	5	5	2	4	8	2	5	10	1	5	5	1	5	5
Foods safety and quality assurance and management systems Zapewnienie bezpieczeństwa i jakości oraz systemy zarządzania	2	2	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	0	0	0
Risk level (R) Poziom ryzyka (R)	35 Negligible Nieistotny			19 Negligible Nieistotny			22 Negligible Nieistotny			24 Negligible Nieistotny			42 Moderate Umiarkowany			45 Moderate Umiarkowany		
Catering facility / Zakład gastronomiczny																		
Criterion / Supplier Kryterium / Dostawca	Hamburgers Hamburgery			Buns Bułki			Cheese Ser			Sausages Parówki			Onion Cebula			Lettuce Sałata		
Category of supplier Kategoria dostawcy	5	5	25	5	5	25	5	5	25	5	5	25	5	5	25	5	5	25
Number of years of cooperation with supplier Liczba lat współpracy z dostawcą	1	1	1	1	1	1	3	1	3	1	1	3	1	1	1	1	1	1
Delayed deliveries Dostawy opóźnione	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3	1	3	3
Outstanding deliveries Dostawy niezrealizowane	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2
Complained deliveries from one supplier Dostawy zareklamowane od jednego dostawcy	1	5	5	1	5	5	1	5	5	3	5	15	1	5	5	1	5	5
Foods safety and quality assurance and management systems Zapewnienie bezpieczeństwa i jakości oraz systemy zarządzania	2	2	4	2	2	4	0	0	0	2	2	4	0	0	0	2	2	4
Risk level (R) Poziom ryzyka (R)	40 Negligible Nieistotny			40 Negligible Nieistotny			38 Negligible Nieistotny			52 Moderate Umiarkowany			36 Negligible Nieistotny			40 Negligible Nieistotny		

suppliers profile, and risk factors. Amid et al. [1] used “FGP”, a fuzzy goal programming, to set an appropriate quantity of orders placed with particular suppliers and they took into account the lowest prices and the highest quality. Laeequddin et al. [12] de-

veloped a trust building model through risk evaluation in a supply chain and the data were analysed using multiple regression analyses. However, the above mentioned methods are not well known to the Polish food industry, neither are they very common in small and medium size companies in the European Union. According to ISO 9004 [8], not every single supplier must go through an audit by the customer company but each one should be assessed. Auditing is a time-consuming process and requires that many auditors are employed or auditing agencies are hired. Many companies only audit the suppliers of high risk raw materials. Nowadays, many companies purchase raw materials from wholesalers and brokers [28], and consequently, those wholesalers should also be audited.

For the last 10 years, the supply chain management has been one of the most studied issues [30]. Global market competition puts pressure on companies to manage their supply chains in an optimal way. The quality of the supply chain not only depends on good management in purchasing high-quality materials but, also, on good management to ensure the quality and punctuality of deliveries and control of costs, as these also affect the quality of the finished product and the competitiveness of a particular company. That is why, for many companies, the management of purchases is deemed to be one of their most important tasks [6].

The method presented in this paper can help assess the risk associated with a particular supplier in a simple way. According to the quantitative model by Berger et al. [3], the companies should use a few suppliers but they have to be assessed and analyzed [8]. For the optimal performance, food processing companies should use the services of the best suppliers of raw materials and improve the culture of food safety and quality [21] by monitoring the quality of the deliveries and by regularly assessing the performance of their suppliers. The method as proposed here would probably work even more efficient in the case the suppliers have been surveyed for at least 6 or even 12 months. Then, the quality of the raw materials supplied would be even better. This method also permits the monitoring of the cooperation with suppliers and it would reduce the risk of failures at the level of suppliers, which, in turn, would impact the quality of finished products. What's more, this special method of assessing the suppliers takes into account the economic factor as it records the frequency of those deliveries, which are delayed or cancelled.

It can also be used to prepare a company-specific standard operation procedure to ensure high performance of the suppliers in terms of the quality and safety of deliveries and services. The response from the companies participating in the present study indicates they would welcome this method and widely apply it. Moreover, it will help draw attention to the important role the supplier plays in the cooperation with the food producers and distributors in order to meet the ISO 9004 requirements. This method is very flexible and can be adjusted according to the specific needs of companies. Our

study leaves room for future applications. All what remains is to analyze the individual criteria of probability and effect. The limitations of using our method consists in that employees with poor knowledge and little experience may not be able to appropriately use our methodology. Also, there is a need for more validation in practice.

Conclusions

1. A simple method was proposed to assess risk of the effect of particular suppliers on the quality and safety of finished food products.
2. The method of assessing the supplier-associated risk was validated in three food processing companies. None of their suppliers was found to have a very strong negative effect on the safety and quality of the final product.
3. Our method of risk assessment can be applied to assess suppliers in different food businesses. However, it is necessary to verify this method in a wider group of food businesses.
4. There are essential limitations of using our method, e.g. knowledge and awareness of the potential users.

References

- [1] Amid A., Ghodsypour S.H., O'Brien C.: Fuzzy multi-objective linear model for supplier selection in a supply chain. *Int. J. Prod. Econ.*, 2006, 104 (2), 394-407.
- [2] Asefa D.T., Kure C.F., Gjerde R.O., Langsrud S., Omer M.K., Nesbakken T., Skaar, I.: A HACCP plan for mycotoxigenic hazards associated with dry-cured meat production processes. *Food Control*, 2011, 22 (6), 831-837.
- [3] Berger P.D., Gerstenfeld A., Zeng, A.Z.: How many suppliers are best? A decision analysis approach. *Omega-Int. J. Manage. Sci.*, 2004, 32 (1), 9-15.
- [4] Costantino N., Pellegrino R.: Choosing between single and multiple sourcing based on supplier default risk: A real options approach. *J. Purch. Supply Manag.*, 2010, 16 (1), 27-40.
- [5] Feng J., Fu Z., Wang Z., Xu M., Zhang X.: Development and evaluation on a RFID-based traceability system for cattle/beef quality safety in China. *Food Control*, 2013, 31 (2), 314-325.
- [6] Florez-Lopez R.: Strategic supplier selection in the added-value perspective: A CI approach. *Inform. Sciences*, 2007, 177 (5), 1169-1179.
- [7] Ghodsypour S.H., O'Brien C.: A decision support system for supplier selection using an integrated analytic hierarchy process and linear programming. *Int. J. Prod. Econ.*, 1998, 56-57 (1), 199-212.
- [8] PN-EN ISO 9004:2010. Zarządzanie ukierunkowane na trwały sukces organizacji. Podejście wykorzystujące zarządzanie jakością.
- [9] Jacob C.J., Mathiasen L., Powell D.A.: Designing effective messages for microbial food safety hazards. *Food Control*, 2010, 21 (1), 1-6.
- [10] Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z., Zielińska D.: Probiotika in Fleischprodukten. *Fleischwirtschaft*, 2012, 92 (4), 101-108.
- [11] Konecka-Matyjek E., Turlejska H., Pelzner U., Szponar L.: Actual situation in the area of implementing quality assurances systems GMP, GHP and HACCP in Polish food production and processing plants. *Food Control*, 2005, 16 (1), 1-9.
- [12] Laeequddin M., Sardana G.D., Sahay B.S., Waheed K.A., Sahay V.: Supply chain partners trust building through risk evaluation: the perspectives of UAE packaged food industry. *Supply Chain Manag.*, 2009, 14 (4), 280-290.

- [13] Leat P., Revoredo-Giha C.: Risk and resilience in agri-food supply chains: The case of the ASDA PorkLink supply chain in Scotland. *Supply Chain Manag.*, 2013, 18 (2), 219-231.
- [14] Legnani P., Leoni E., Berveglieri M., Mirolo G., Alvalo N.: Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*, 2004, 15 (3), 205-211.
- [15] Linthorst M.M., Telgen J.: Public purchasing future: Buying from multiple sources. In: *Advancing Public Procurement: Practices, Innovation and Knowledge-Sharing*. Eds. G. Piga, K.V. Thai. PrAcademics Press, Boca Raton, Florida, 2007, pp. 471-482.
- [16] Luning P.A., Marcelis W.J., Jongen W.M.F.: *Food Quality Management: A Techno-managerial Approach*. Wageningen Press, Wageningen 2002.
- [17] Meena P.L., Sarmah S.P., Sarkar A.: Sourcing decisions under risks of catastrophic event disruptions. *Transport. Res. E-Log.*, 2011, 47 (6), 1058-1074.
- [18] Morkis G.: Zakres wdrożenia obligatoryjnych systemów zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego i zarządzania jakością w przedsiębiorstwach przemysłu spożywczego w Polsce. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 5 (84), 203-214.
- [19] Poumeyrol G., Rosset P., Noel V., Morelli E.: HACCP methodology implementation of meat pâté hazard analysis in pork butchery. *Food Control*, 2010, 21 (11), 1500-1506.
- [20] Powell D.A., Erdozain S., Dodd C., Costa R., Morley K., Chapman B.J.: Audits and inspections are never enough: A critique to enhance food safety. *Food Control*, 2013, 30 (2), 686-691.
- [21] Powell D.A., Jacob C.J., Chapman B.J.: Enhancing food safety culture to reduce rates of foodborne illness. *Food Control*, 2011, 22 (6), 817-822.
- [22] Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *OJ L* 31, pp. 1-24, of 01.02.2002.
- [23] Rhoades J.R., Duffy G., Koutsoumanis K.: Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. *Food Microbiology*, 2009, 26 (4), 357-376.
- [24] Soriano M., Rico H., Molto J.C., Manes J.: Effect of introduction of HACCP on the microbiological quality of same restaurants meals. *Food Control*, 2002, 13 (4-6), 253-261.
- [25] Trafiałek J., Pawłowska J.: Analiza efektów szkolenia pracowników firmy cateringowej z wdrożonym systemem zarządzania bezpieczeństwem żywności, zgodnym z normą ISO serii 22000. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 1 (86), 217-229.
- [26] Trafiałek J., Przybylski W.: Analysis of risk exposure to carcinogenic diseases from pork meat. *Fleischwirtschaft Intern.*, 2011, 26 (4), 73-78.
- [27] Van Wezemael L., Verbeke W., Kügler J.O., Barcellos M.D., Grunert K.G.: European consumers and beef safety: Perceptions, expectations and uncertainty reduction strategies. *Food Control*, 2010, 21 (6), 835-844.
- [28] Wallace C., Sperber W., Mortimore S.E.: *Food Safety for the 21st Century: Managing HACCP and Food Safety throughout the Global Supply Chain*. Willey Blackwell, Oxford, United Kingdom, 2011.
- [29] Wang D., Wu H.N., Hu X.T., Yang M.L., Yao P., Ying Ch.J., Hao L.P., Liu L.G.: Application of Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) system to vacuum-packed sauced pork in Chinese food corporation. *Food Control*, 2010, 21 (4), 584-591.
- [30] Xia W., Wu Z.: Supplier selection with multiple criteria in volume discount environments. *Omega-Int. J. Manage. Sci.*, 2007, 35 (5), 494-504.

OCENA DOSTAWCÓW W SEKTORZE ŻYWNOŚCIOWYM: CZY JEST METODA SZACOWANIA RYZYKA?

Streszczenie

Celem pracy było opracowanie łatwej do zastosowania metody oceny ryzyka związanego z dostawcami w sektorze żywnościowym. Metoda zaproponowana w pracy umożliwia obliczenie poziomu ryzyka współpracy z danym dostawcą w prosty matematyczny sposób. Ocena ryzyka bazuje na sześciu kryteriach dla każdego dostawcy: rodzaju towarów lub produktów dostarczanych przez dostawcę, czasie współpracy z dostawcą, systemach stosowanych przez dostawcę do zagwarantowania jakości i bezpieczeństwa, opóźnionych i odwołanych dostawach, zareklamowanych dostawach z powodu nieodpowiedniej jakości surowców. Metoda została zwalidowana w trzech zakładach: mięsny, mleczarski i gastronomiczny. Zaproponowano prostą metodę oceny ryzyka danego dostawcy w aspekcie wpływu na jakość i bezpieczeństwo produktu. Metoda może być stosowana w zakładach różnych branż. Największą korzyścią zaproponowanej metody jest jej łatwość stosowania oraz funkcjonalność. Może być wykorzystana w małych zakładach i nie wymaga stosowania skomplikowanych obliczeń, czy zaawansowanych statystycznych narzędzi. Metoda może być bardzo pomocna w przedsiębiorstwach, ale ma pewne ograniczenia, jak wiedza i świadomość użytkowników.

Słowa kluczowe: dostawca, ryzyko, ocena ryzyka, bezpieczeństwo żywności, jakość żywności zagrożenie ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 marca 2017 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 15 grudnia 2016 r. o przeciwdziałaniu nieuczciwemu wykorzystywaniu przewagi kontraktowej w obrocie produktami rolnymi i spożywczymi (Dz. U. 2017 r., poz. 67).

Ustawa określa zasady i tryb przeciwdziałania w celu ochrony interesu publicznego, praktykom nieuczciwie wykorzystującym przewagę kontraktową przez nabywców produktów rolnych lub spożywczych lub dostawców tych produktów, jeżeli to wykorzystywanie wywołuje lub może wywołać skutki na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

Ustawę stosuje się do umów nabycia produktów rolnych lub spożywczych z wyłączeniem dostaw bezpośrednich w rozumieniu ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2015 r., poz. 594, z późn. zm.), zawieranych między nabywcami tych produktów a ich dostawcami, wówczas gdy:

- łączna wartość obrotów między nimi w roku wszczęcia postępowania w sprawie praktyk nieuczciwie wykorzystujących przewagę kontraktową lub w którymkolwiek z 2 lat poprzedzających rok wszczęcia postępowania przekracza 50 000 zł oraz
- obrót, o którym mowa w art. 33 ust. 1, nabywcy albo dostawcy, który stosował praktykę nieuczciwie wykorzystującą przewagę kontraktową, a w przypadku gdy należy on do grupy kapitałowej w rozumieniu art. 4 pkt 14 ustawy z dnia 16 lutego 2007 r. o ochronie konkurencji i konsumentów (Dz. U. 2015 r., poz.

184, 1618 i 1634 oraz 2016 r. poz. 1823), obrót tej grupy, w roku poprzedzającym rok wszczęcia postępowania, o którym mowa w pkt 1, przekracza 100 000 000 zł.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 11 stycznia 2017 r. w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*)" na lata 2017-2019 (Dz. U. 2017 r., poz. 114).

Na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej wprowadza się "Krajowy program zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*)" na lata 2017-2019, stanowiący załącznik do rozporządzenia.

3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 23 lutego 2017 r. w sprawie szczególnych wymagań higienicznych w zakresie transportu morskiego cukru surowego luzem (Dz. U. 2017 r., poz. 451). <http://www.lex.pl/du-akt/-/akt/dz-u-2017-451-1-fn-lab-2>

Rozporządzenie określa szczególne wymagania higieniczne w zakresie transportu morskiego cukru surowego luzem stanowiące odstępstwa od wymagań określonych w rozdziale IV ust. 4 załącznika II do rozporządzenia (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych (Dz. Urz. UE L 139 z 30.04.2004, str. 1, z późn. zm. Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 34, str. 319).

4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 28 lutego 2017 r. w sprawie stażu adaptacyjnego i testu umiejętności w toku postępowania o uznanie kwalifikacji do wykonywania zawodu regulowanego rzeczoznawcy w zakresie jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz. U. 2017 r., poz. 488).

Na podstawie art. 22 ustawy z dnia 22 grudnia 2015 r. o zasadach uznawania kwalifikacji zawodowych nabytych w państwach członkowskich Unii Europejskiej (Dz. U. z 2016 r. poz. 65) w niniejszym rozporządzeniu zostały określone wymagania kwalifikacji do wykonywania zawodu regulowanego rzeczoznawcy w zakresie jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych:

- warunki, sposób i tryb odbywania stażu adaptacyjnego, sposób i tryb wykonywania nadzoru nad jego odbywaniem oraz oceny nabytych w jego trakcie umiejętności, sposób ustalania kosztów odbywania stażu adaptacyjnego oraz tryb pobierania i zwrotu opłaty za jego odbywanie,
- warunki, sposób i tryb przeprowadzania testu umiejętności oraz oceny posiadanych przez wnioskodawcę umiejętności, sposób ustalania kosztów przeprowadzania testu umiejętności oraz tryb pobierania i zwrotu opłaty za jego przeprowadzenie.

5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 3 marca 2017 r. w sprawie wzoru imiennego okresowego upoważnienia do przeprowadzenia kontroli

przez pracowników Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych (Dz. U. 2017 r., poz. 541).

- Rozporządzenie określa wzór imiennego okresowego upoważnienia do przeprowadzenia kontroli przez pracowników Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, o której mowa w art. 25 ustawy z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych, stanowiący załącznik do rozporządzenia.

6. Ustawa z dn. 2 marca 2001 r. o wyrobie alkoholu etylowego oraz wytwarzaniu wyrobów tytoniowych (Dz. U. 2017 r., poz. 206).

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 2 marca 2001 r. o wyrobie alkoholu etylowego oraz wytwarzaniu wyrobów tytoniowych.

Ustawa określa zasady i warunki podejmowania i wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu alkoholu etylowego i jego skażenia oraz wytwarzania wyrobów tytoniowych.

W rozumieniu niniejszej ustawy:

- alkohol etylowy oznacza płyn alkoholowy uzyskany w wyniku destylacji po fermentacji alkoholowej produktów rolnych albo płyn alkoholowy uzyskany w sposób syntetyczny,
- wyrób tytoniowy oznacza wyrób wyprodukowany z tytoniu przeznaczony do palenia oraz tabakę.

7. Ustawa z dn. 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2017 r., poz. 149).

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia.

Ustawa określa wymagania i procedury niezbędne dla zapewnienia bezpieczeństwa żywności i żywienia zgodnie z przepisami rozporządzenia (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającego ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującego Europejski Urząd do Spraw Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającego procedury w sprawie bezpieczeństwa żywności (Dz. Urz. WE L 31 z 01.02.2002, str. 1; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 6, str. 463).

8. Ustawa z dn. 16 grudnia 2005 r. o produktach pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2017 r., poz. 242). <http://www.lex.pl/du-akt/-/akt/dz-u-2017-242-t-j-fn-lab-1>

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 16 grudnia 2005 r. o produktach pochodzenia zwierzęcego.

Ustawa reguluje właściwość organów w zakresie higieny i kontroli produktów pochodzenia zwierzęcego, a także żywności zawierającej jednocześnie środki spożywcze pochodzenia niezwierzęcego i produkty pochodzenia zwierzęcego, znajdujące się w rolniczym handlu detalicznym.

- Ustawa określa również właściwość organów Inspekcji Weterynaryjnej w zakresie urzędowych kontroli produktów pochodzenia zwierzęcego, a także żywności zawierającej jednocześnie środki spożywcze pochodzenia niezwierzęcego i produkty pochodzenia zwierzęcego, znajdujące się w rolniczym handlu detalicznym, określonych w przepisach rozporządzenia (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regulami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1, z późn. zm.). Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 200).
9. Ustawa z dn. 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin (Dz. U. 2017 r., poz. 50).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin.
<http://www.lex.pl/du-akt/-/akt/dz-u-2017-50-t-j-fn-lab-1>
10. Ustawa z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt (Dz. U. 2017 r., poz. 546).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt <http://www.lex.pl/du-akt/-/akt/dz-u-2017-546-t-j-fn-lab-1>
Ustawa określa zasady identyfikacji i rejestracji zwierząt, w tym tryb nadawania numerów siedzib stad oraz numerów identyfikacyjnych zwierząt, a także wpisywania na listę prowadzoną przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa i skreślania z tej listy podmiotów dostarczających kolczyki lub duplikaty kolczyków oraz kolczyki lub duplikaty kolczyków zawierające elektroniczne identyfikatory albo czytniki elektronicznych identyfikatorów.
11. Ustawa z dn. 22 lipca 2006 r. o paszach (Dz. U. 2017 r., poz. 453).
<http://www.lex.pl/du-akt/-/akt/dz-u-2017-453-t-j-fn-lab-1>
Ustawa określa m.in. właściwość organów w zakresie higieny i urzędowej kontroli pasz oraz dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/335 z dn. 27 lutego 2017 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania glikozydów stewiolowych (E 960) jako substancji słodzącej w niektórych wyrobach cukierniczych o obniżonej wartości energetycznej (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2017 r., poz. 50, s. 15).
W załączniku II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia. Zmiany dotyczą kategorii żywności 05.2 „Pozostałe wyroby cukiernicze, w tym pastylki i drażetki odświeża-

- jące oddech”, a w szczególności dotyczą stosowania E 960 glikozydów stewiowych w tych wyrobach.
2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/378 z dn. 3 marca 2017 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008 w odniesieniu do niektórych substancji aromatycznych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2017 r., poz. 58, s. 14).

W części A załącznika I do rozporządzenia (WE) nr 1334/2008 wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia.

Żywność, do której dodano którąkolwiek z substancji aromatycznych wymienionych w załączniku do niniejszego rozporządzenia, która nie spełnia warunków określonych w tym załączniku, a została zgodnie z prawem wprowadzona do obrotu przed wejściem w życie niniejszego rozporządzenia, może być przedmiotem obrotu do upływu daty jej minimalnej trwałości lub terminu przydatności do spożycia. Żywność, do której dodano którąkolwiek z substancji aromatycznych wymienionych w załączniku do niniejszego rozporządzenia i która nie spełnia warunków określonych w tym załączniku, będąca przedmiotem przywozu z państwa trzeciego do Unii, może pozostawać w obrocie do upływu daty jej minimalnej trwałości lub terminu przydatności do spożycia, jeżeli importer takiej żywności może wykazać, że została ona wysłana z danego państwa trzeciego i znajdowała się w drodze do Unii przed wejściem w życie niniejszego rozporządzenia. Okresy przejściowe nie mają zastosowania do mieszanin środków aromatyzujących. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Glass Transition and Phase Transitions in Food and Biological Materials

[Przejście szkliste i przejścia fazowe w żywności i materiałach biologicznych]

Jasim Ahmed, Mohammad Shafiur Rahman, Yrjo H. Roos

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2017, ISBN: 978-1-118-93572-9, liczba stron 496, cena 180,00 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

W książce przedstawiono, jak parametry opisujące przejście w stan szklisty wpływają na mikrostrukturę i przetwarzanie żywności i innych materiałów pochodzenia biologicznego, projektowanie produktu oraz jego sposób pakowania i przechowywania. Zagadnienia opisane w książce pozwalają zrozumieć czytelnikom istotę przejść fazowych, w tym przejścia szklistego, zjawisko relaksacji oraz krystalizacji i topnienia kryształów, a także mechanizm plastyfikacji w różnych układach biologicznych. Ponadto w opracowaniu omówiono wykorzystanie technik relaksacyjnych w pomiarach termicznych właściwości żywności. Scharakteryzowano również wpływ przejścia w stan szklisty na temperaturowy profil suszenia rozpyłowego żywności bogatej w sacharydy oraz na jej stabilność w trakcie przechowywania. W podsumowaniu wskazano na związek pomiędzy nauką o żywności a inżynierią polimerów.

Handbook of Drying for Dairy Products

[Podręcznik suszenia produktów mleczarskich]

C. Anandharamakrishnan

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2017; ISBN: 978-1-118-93049-6, liczba stron 336, cena: 156,00 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

Publikacja jest przewodnikiem z zakresu produkcji i utrwalania składników żywności na bazie mleka. Autor szczegółowo omówił techniki i efekty suszenia bębnowego, rozpyłowego, liofilizacyjnego i hybrydowego. Przedstawił najnowsze wyniki badań naukowych dotyczących metod suszenia w przemyśle mleczarskim oraz ich komputerowe modelowanie. Opisał także wpływ różnych technik suszenia na wartość odżywczo-

czą produktów mleczarskich. Książka stanowi cenne źródło informacji zarówno dla naukowców, jak i technologów – praktyków działających w branży mleczarskiej.

Food Bioactives. Extraction and Biotechnology Applications

[Żywność bioaktywna. Ekstrakcja i aplikacje biotechnologiczne]

Munish Puri

Wydawnictwo: Springer, 2017, ISBN 978-3-319-51637-0, liczba stron 326, cena 160,49 EUR

Zamówienia: www.springer.com

W opracowaniu przeanalizowano różne związki bioaktywne, w tym wtórne metabolity, oligosacharydy, polisacharydy, flawonoidy, peptydy/białka, karotenoidy, chinony, terpeny i wielonienasycone kwasy tłuszczowe w aspekcie ich aktywności nutraceutycznej. Opisano obecny stan wiedzy oraz przyszły potencjał biologicznie aktywnych związków odżywczych, jak również technologie ekstrakcji bioaktywnych składników pochodzenia roślinnego i substancji biologicznie czynnych pochodzenia morskiego. W opracowaniu przedyskutowano wpływy prozdrowotnych substancji roślinnych i pochodzenia morskiego na kondycję i zdrowie organizmu ludzkiego.

Mycotoxins in Plants and Plant Products. Cereals and Cereal Products

[Mikotoksyny w roślinach i produktach roślinnych. Zboża i produkty zbożowe]

Martin Weidenböcker

Wydawnictwo: Springer, 2017, ISBN 978-3-319-46713-9, liczba stron 822, cena 319,93 EUR

Zamówienia: www.springer.com

Zanieczyszczenie surowca lub produktu żywnościowego mikotoksynami następuje w wyniku inwazji przez środowiskowe grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. i *Alternaria* spp., lub grzyby magazynowe, takie jak *Aspergillus* spp. i *Penicillium* spp., które mogą rozwijać się na/lub/w składowanych surowcach czy produktach i są zdolne do wytwarzania mikotoksyn. Mogą być one bardzo szkodliwe ze względu na negatywne skutki zdrowotne zarówno dla zwierząt, jak i ludzi, gdy trafiają do organizmu spożywane z paszą lub żywnością. W książce zawarto szczegółowe informacje na temat zbóż i produktów zbożowych, które są narażone na zanieczyszczenie mikotoksynami. Podano również podstawowy przegląd mikotoksyn w tego typu artykułach spożywczych. W opracowaniu omówiono również podatność poszczególnych zbóż na zanieczyszczenie mikotoksynami oraz ich występowanie i stopień zanieczyszczenia produktów zbożowych.

High Pressure Processing of Fruit and Vegetable Juices**[Wysokociśnieniowe przetwarzanie soków owocowych i warzywnych]**

Milan Houška, Filipa Vinagre Marques da Silva

Wydawnictwo: CRC Press, 2017, ISBN 978-1-4987-3902-3, liczba stron 186, cena 79,20 GBP

Zamówienia: www.crcpress.com

Obróbka pod wysokim ciśnieniem jest jedną z najszybciej rozwijających się technologii przetwarzania żywności. Jej zastosowanie pozwala na zachowanie prawie wszystkich składników odżywczych, jakie występują w oryginalnych surowcach owocowych lub warzywnych. Opracowanie stanowi przegląd i podsumowanie najnowszych osiągnięć w obróbce wysokociśnieniowej stosowanej do przedłużania trwałości przetworów owocowych i warzywnych, soków owocowych oraz ich mieszanek. Zawiera podstawowe informacje dotyczące relacji pomiędzy parametrami procesowymi obróbki wysokociśnieniowej a bezpieczeństwem oraz jakością soków owocowych i warzywnych. Autorzy skoncentrowali się również na parametrach jakościowych soków, wartości odżywczej i obecności bioaktywnych składników zdrowotnych oraz bezpieczeństwie mikrobiologicznym. Wyjaśnili, jak oszacować skuteczność obróbki wysokociśnieniowej eliminującej typowe mikroorganizmy zawarte w surowych sokach warzywnych i owocowych, a tym samym zdolność metody do wydłużania okresu przydatności do spożycia omawianych produktów.

Opracował: Lesław Juszcak

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. HENRYK LESZEK KOSTYRA 1945 - 2016



Profesor Henryk Leszek Kostyra urodził się 10 listopada 1945 roku w Wolsztynie. Studia wyższe ukończył na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Stopień doktora nauk technicznych uzyskał w roku 1977, a doktora habilitowanego w 1985 roku. Tytuł naukowy profesora nauk rolniczych został Mu nadany przez Prezydenta RP w roku 1994.

Profesor Kostyra był wybitnym uczonym oraz nauczycielem akademickim wielu pokoleń studentów. Od roku 1968 pracował na Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie, gdzie w latach 1987 - 1989 był kierownikiem Katedry Biochemii Żywności. Przez wiele kolejnych lat Prof. Kostyra był związany z Instytutem Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, w którym w latach 1995 - 2008 kierował Zakładem Chemii Żywności, a w latach 2009 - 2010 – Zakładem Immunologii i Mikrobiologii Żywności. W latach 1997 - 2004 pełnił funkcję zastępcy dyrektora ds. naukowych tego Instytutu. W 2001 roku Prof. Kostyra podjął pracę w Olsztyńskiej Szkole Wyższej im. Józefa Rusieckiego, gdzie był cenionym wykładowcą i pełnił najważniejsze funkcje akademickie. Od roku 2003 był dziekanem Wydziału Zdrowia Publicznego OSW. W latach 2004 - 2006 pełnił funkcję prorektora, a w latach 2006 - 2016 – rektora tej uczelni.

Zainteresowania naukowe Prof. Henryka Kostyry skupiały się na zagadnieniach związanych z chemią, biochemią i technologią żywności. Przez wiele lat zajmował się zagadnieniami hydrolizy i interakcji białek żywności ze składnikami niebiałkowymi. Badania prowadzone w warunkach odzwierciedlających procesy technologiczne były kontynuowane w kierunku właściwości immuno- i alergennych otrzymywanych produktów. Ich celem było zmniejszenie alergenicności produktów spożywczych i zwią-

szenie progu tolerancji na nie za pomocą ustnej immunoterapii u osób dotkniętych alergią pokarmową. W ostatnich latach działalności naukowej Prof. Henryk Kostyra zajmował się nutrikosmetologią, wskazując na potrzebę łączenia nauki o żywności i żywieniu z kosmetologią.

Dorobek naukowy Prof. Henryka Kostyry obejmuje ponad 160 prac naukowych z zakresu chemii żywności, technologii żywności i żywienia oraz biotechnologii, w większości o wybitnym i nowatorskim charakterze. Wyrazem Jego aktywności naukowej był także udział w licznych konferencjach ogólnopolskich i zagranicznych. Jako Redakcja czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* (ŻNTJ) z wdzięcznością i wielkim szacunkiem odbieraliśmy aktywność Pana Profesora w zakresie popularyzacji i objaśniania nowych kierunków w nauce o żywności i żywieniu, zwłaszcza że wyrazem tej aktywności były publikacje w naszym periodyku. W latach 2001 (nr 28) - 2010 (nr 73) Pan Profesor był współautorem i redaktorem działu *Współczesny leksykon wiedzy o żywności*. Celem tego działu było zapoznavanie czytelników z nowymi pojęciami pojawiającymi się w nauce o żywności i żywieniu. Na podstawie publikowanych odcinków w 2015 r. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ wydało zebrane hasła w formie książki pt. „Nauka o żywności. Leksykon wybranych terminów” pod red. Henryka Kostyry. Kolejnym działem redagowanym i współtworzonym przez Prof. Kostyrę były *Interakcje składników żywności* (od nr 74/2011 do nr 103/2015). Celem tego działu było syntetyczne przedstawianie informacji dotyczących powiązania natury chemicznej z aktywnością biologiczną składników żywności. Pan Profesor podążał za ewolucją nauki o żywności, dlatego na początku 2016 roku podjął się kolejnego zadania – redagowania i współtworzenia działu *Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności*, uznając ze współautorkami, że dziedzina ta jest „syntezą problemów dotyczących żywności w aspekcie osiągnięć naukowych z biochemii, chemii nieorganicznej i organicznej w ewolucyjnym wymiarze. Tak więc będą one wzbogacać wiedzę o żywności, a pośrednio i żywienia człowieka o ogólne zasady łączące ze sobą pozornie odległe zagadnienia. Ewolucyjny charakter chemii żywności będzie akcentowany poprzez symbiozę rozwoju organizmów żywych z materią nieożywioną, dowodząc tym samym współzależności istnienia człowieka od środowiska naturalnego.” W ŻNTJ ukazały się jedynie cztery odcinki tego działu, gdyż śmierć Pana Profesora przerwała jakże ważną dla czytelników pracę.

Pan Profesor był cenionym nauczycielem i wychowawcą wielu pokoleń młodzieży akademickiej oraz kadry dydaktycznej. Podczas 40-letniej pracy naukowo-dydaktycznej był promotorem ponad 30 prac magisterskich, 15 dysertacji doktorskich, recenzentem prac doktorskich, habilitacyjnych i wniosków o nadanie tytułu profesora. Profesor troszczył się zwłaszcza o młode pokolenie naukowców – niejednokrotnie był gościem Ogólnopolskich Sesji Naukowych Młodej Kadry PTTŻ, podczas których dzielił się swoim doświadczeniem i udzielał cennych wskazówek młodym adeptom nauki.

Profesor Henryk Kostyra był członkiem wielu organizacji naukowych i towarzystw, w tym: Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, a po przekształceniu – Komitetu Nauk o Żywności PAN, Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz brał udział w pracach zespołów redakcyjnych periodyków naukowych. Z czasopismem *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* Pan Profesor był związany niemal od początku jego istnienia. Dzięki Jego recenzjom możliwa była stała praca nad podnoszeniem poziomu publikowanych artykułów. Od roku 2001 był członkiem Rady Programowej, a od 2013 roku – Rady Naukowej ŻNTJ oraz redaktorem działów wymienionych wyżej.

Za swoją działalność naukową Profesor Henryk Kostyra został odznaczony m.in. Brązowym, Srebrnym i Złotym Krzyżem Zasługi, Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Medalem Edukacji Narodowej oraz Złotym Medalem za Długoletnią Służbę.

W pamięci Zespołu Redakcji Profesor Henryk Kostyra pozostanie zawsze jako autorytet naukowy, Człowiek twórczy, chętny do współpracy, a przy tym bardzo sumienny i życzliwy. We wdzięcznej pamięci mamy 16 lat współpracy z Panem Profesorem przy publikowaniu odcinków kolejnych działów, w których przybliżał czytelnikom "tajniki" współczesnej wiedzy z zakresu nauki o żywności. Szkoda, że odcinków tych już nie będzie....

Henryk Kostyra zmarł 31 grudnia 2016 roku. Został pożegnany 5 stycznia 2017 roku przez społeczność akademicką w Auli im prof. Moczarskiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego i pochowany na Cmentarzu Komunalnym przy ulicy Poprzecznej w Olsztynie.

Żegnamy Pana Profesora ze świadomością, że Jego odejście jest niepowetowaną stratą nie tylko dla nas – dla Zespołu Redakcji, ale przede wszystkim dla nauki polskiej.

*Ewa Ślawska w imieniu Zespołu Redakcji czasopisma
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*

Pan Profesor Henryk Kostyra obdarzony był szczególnymi przymiotami osobowościowymi, które godne są wspomnienia, a które w bardzo osobisty sposób opisał Jego bliski współpracownik – Profesor Ryszard Amarowicz.

Najpierw słuchamy wykładów, przygotowujemy seminaria, piszemy prace magisterskie i doktorskie. Potem sami głosimy wykłady, prowadzimy seminaria, jesteśmy

promotorami i recenzentami. I nagle, gdzieś w nas, komórka wyłamuje się spod kontroli, słyszymy od naszego organizmu „szach”, a potem „mat”.

Henryk, z racji wieloletniej z Nim znajomości mogę Go tak nazywać, był człowiekiem powszechnie lubianym. I nie jest to zwrot retoryczny, a stwierdzenie oddające Jego relacje z ludźmi. Był lubianym za pogodny charakter, bezpośredniość, wielką kulturę osobistą. W dyskusji umiał użyć przemawiających argumentów, szanował poglądy innych. Był szanowany za Swoją wiedzę i za umiejętność przekazywania jej studentom i współpracownikom. Za spokój i zdolność panowania nad emocjami. Za coś, co pozwala Go nazwać „Profesorem starej daty”. Teraz widzę, że potrafił trzymać dystans do tego naukowego pośpiechu, w którym przychodzi nam teraz działać. Wszechstronna wiedza Henryka pozwalała Mu zabierać głos w dyskusji tak z chemikiem, biochemikiem, biologiem, jak i z technologiem. Jego recenzje prac doktorskich miały zawsze w swej treści intermezzo. Henryk odnosił się do istoty problemu badawczego w kontekście całej dyscypliny naukowej. Wskazywał na ważkość i aktualność podjętego tematu. A wszystko to przekazywał w nienagannej formie językowej.

W okresie tworzenia Centrum Weterynarii i Agrotechnologii PAN w Olsztynie (obecny Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN) pracowałem w zespole kierowanym przez Henryka. Pamiętam Jego duże zaangażowanie w tworzenie grupy badawczej i umiejętność kierowania zespołem. Podobne wspomnienia mam z okresu, gdy pracowaliśmy już w ramach Zakładu Chemii Żywności. Henryk dawał naukowcom dużą swobodę badawczą. Korzystaliśmy z Jego doświadczenia. Pomagał nam rozwiązywać problemy. W Zakładzie stworzył doskonałą atmosferę. Spotkania przed Wigilią były rytuałem. Wspólnie zdobywaliśmy doświadczenie w realizacji pierwszego międzynarodowego projektu. Cieszyliśmy się z interesujących wyników, uczyliśmy się pisać sprawozdania, zdobywaliśmy cenne kontakty z zagranicznymi ośrodkami. W części nieoficjalnej sprawozdawczych spotkań Henryk był duszą towarzystwa.

Ostatni raz spotkaliśmy się, gdy w momencie odejścia z Instytutu na emeryturę zaprosił nas, kilkoro ze Swoich byłych pracowników, do klubu w Kortowie. W pamięci na zawsze został mi Jego obraz z tego dnia. Naukowca spełnionego życiowo, który pozostawił po sobie uczniów. Człowieka, który dla wielu z nas będzie wzorem postawy dociekliwego badacza.

*Ryszard Amarowicz
Olsztyn, 5 luty 2017*

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. ANNA LEOKADIA MIĘDZOBRODZKA 1927 - 2017



Anna Leokadia Międzobrodzka urodziła się 23 lipca 1927 roku w Krakowie. Tytuł magistra nauk farmaceutycznych otrzymała na Wydziale Farmacji Akademii Medycznej w Krakowie w 1952 roku. Stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych został Jej nadany uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego AM we Wrocławiu w 1966 roku na podstawie rozprawy pt. „Próba oceny wpływu posiłków szkolnych realizowanych według opracowanego modelu na rozwój fizyczny dzieci w wieku 7-14 lat”. Promotorem pracy był prof. dr hab. T. Nowakowski. W 1978 roku została doktorem habilitowanym nauk rolniczych w zakresie techno-

logii żywienia (temat rozprawy: „Badania nad immunologicznie czynnymi substancjami występującymi w miodzie pszczelim”). Tytuł naukowy profesora nadzwyczajnego nauk rolniczych w zakresie żywienia człowieka i bromatologii otrzymała w 1990 roku, a profesora zwyczajnego – w roku 1994.

W latach 1953 - 1967 Profesor Anna Międzobrodzka pracowała kolejno w charakterze asystenta, kierownika Pracowni, a później Oddziału Higieny Żywienia w Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej we Wrocławiu. Jednocześnie w latach 1961-1964 była wykładowcą i kierownikiem szkolenia zawodowego w Pomaturalnej Szkole Instruktorów Higieny, a w latach 1964-1967 pracowała w Katedrze Higieny Akademii Medycznej we Wrocławiu. We wrześniu 1967 roku została zatrudniona w Studium Gospodarstwa Wiejskiego Wyższej Szkoły Rolniczej w Krakowie na etacie adiunkta, a we wrześniu 1971 roku w Oddziale Technologii Żywności Wydziału Rolniczego.

Odbyła liczne staże: stypendium naukowe FAO/ONZ w Queen Elisabeth College w Londynie w 1962 roku oraz w National of Human Nutrition w Oslo w 1963 roku, stypendium DAAD w Niemczech w Katedrze Żywienia Człowieka Uniwersytetów w Kilonii, Giessen i Bonn w 1983 roku. Ponadto w ramach wymiany naukowej w latach 1988-1994 była m.in. we Włoszech (Perugia), w Grecji (Saloniki), Norwegii (Oslo, Bergen) i USA (St. Indiana) na Wydziałach Żywienia Człowieka i Badania Środków Spożywczych. W latach 2000-2002 odbyła staże naukowe w Holandii (Uniwersytet Medyczny w Maastricht) oraz w Wielkiej Brytanii (Uniwersytet w Sheffield).

W 1978 roku prof. dr hab. Anna Międzobrodzka została kierownikiem Zakładu Żywienia Człowieka Wydziału Technologii Żywności AR w Krakowie. W 1995 roku Zakład został przekształcony w Katedrę, którą kierowała do momentu przejścia na emeryturę w 1997 roku. W latach 1997-2002 była kierownikiem Zakładu Żywienia Człowieka na nowo powstałym Wydziale Ochrony Zdrowia w Instytucie Zdrowia Publicznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Profesor Anna Międzobrodzka od 1981 do 1984 roku pełniła funkcję prodziekana Wydziału Rolniczego ds. Technologii Żywności. Była członkiem Senackiej Komisji ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą (1984-1987), Senackiej Komisji ds. Nagród i Odznaczeń (1991-1996), Wydziałowej Komisji ds. Merytorycznej Oceny Prac Badawczych (1982-1990), a w latach 1984-1987 – przewodniczącą tej Komisji. W okresie 1994-1996 pełniła funkcję przewodniczącej Wydziałowej Komisji Konkursowej dla profesorów, kilkakrotnie była przewodniczącą bądź członkiem Komisji Rekrutacyjnej na Wydziale.

Główne zainteresowania naukowe prof. dr hab. Anny Międzobrodzkiej dotyczyły badań z zakresu sposobu żywienia i stanu odżywienia różnych grup ludności oraz zawartości składników odżywczych, nieodżywczych i szkodliwych w środkach spożywczych/racjach pokarmowych. W ostatnich latach swej działalności, ze względu na stwierdzany niezadowalający stan zdrowia populacji polskiej i postępujący rozwój chorób dietozależnych, zajęła się badaniem poziomu wiedzy żywieniowej różnych grup ludności oraz popularyzowaniem zasad prawidłowego żywienia.

Pani Profesor była autorką lub współautorką 141 publikacji, w tym 57 oryginalnych prac badawczych oraz dwóch patentów. Była promotorem 4 prac doktorskich, 74 prac magisterskich i 7 licencjackich. Do ważnych Jej opracowań należały: *An attempt to fortify drinking juices with magnesium salts*, Die Nahr. Food, 32, 5, 1987; *The content of selected minerals and some heavy metals in food products from southern Poland. Part I. Wheat and rye grain*, Pol. J. Food Nutr. Sci., 1992; *Badania stanu wiedzy personelu medycznego w zakresie żywienia człowieka*, Zdr. Publ., 110, 2000. Była też autorką rozdziału *Żywienie człowieka zdrowego* w podręczniku *Domowy poradnik me-*

dyczny, PZWL, Warszawa 1996 oraz rozdziału *Podstawy polskiego ustawodawstwa żywnościowego* w podręczniku *Zdrowie publiczne*, Wyd. Med. Yesalius, Kraków 2001.

W latach 1987-1999, tj. przez 4 kadencje, prof. dr hab. Anna Międzobrodzka była członkiem Komitetu Żywienia Człowieka VI Wydziału Nauk Medycznych PAN w Warszawie, od 1984 do 1990 roku – członkiem Komitetu Oceny i Analizy Środków Spożywczych w Oddziale Krakowskim PAN, od roku 1987 – członkiem Komisji Ochrony Zdrowia Publicznego. W latach 1981-1993 była członkiem Komisji ds. Rolnictwa i Leśnictwa. Należała również do Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Nauk Żywnościowych w Warszawie, a w krakowskim oddziale pełniła funkcję przewodniczącej w latach 1991-1999. W latach 1987-1991 była także członkiem Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Od 1986 roku należała do Polskiego Towarzystwa Dietetyki i była członkiem Komisji Nauki i Kształcenia w Zarządzie Głównym tego Towarzystwa.

W związku z tematyką prac badawczych oraz dużym znaczeniem naukowych podstaw prawidłowego żywienia prowadziła wykłady w różnych instytutach i towarzystwach naukowych jako uznany nauczyciel akademicki, m.in. w Instytucie Żywności i Żywienia im. Prof. A. Szczygła w Warszawie, w Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze, na studiach podyplomowych AR na Wydziale Technologii Żywności i na Wydziale Leśnym, a także w Collegium Medicum UJ na Wydziale Ochrony Zdrowia i w innych ośrodkach naukowych. Kilka razy pełniła funkcję przewodniczącej Okręgowej Olimpiady Wiedzy o Żywieniu w Zespole Szkół Gastronomicznych w Krakowie. Na przestrzeni całego okresu pracy zawodowej, w ramach prac społecznych, organizowała wykłady, warsztaty i seminaria popularyzujące zasady żywienia człowieka.

Prof. dr hab. Anna Leokadia Międzobrodzka wyróżniona była m.in. odznaczeniem „Za wzorową pracę w służbie zdrowia” (Wrocław 1967), Złotym Krzyżem Zasługi (1989), Srebrną Odznaką NOT (1989), Medalem Komisji Edukacji Narodowej (1994), Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski (1997). Otrzymała także dwie nagrody Ministerstwa Szkolnictwa Wyższego i Ministerstwa Edukacji Narodowej oraz 16 nagród Rektora AR.

Była członkiem NSZZ „Solidarność” Akademii Rolniczej i przedstawicielem Wydziału Technologii Żywności AR w Zarządzie Uczelnianym Związku.

Niezwykłe cechy osobowe Pani Profesor Anny Leokadii Międzobrodzkiej – dar zjednywania ludzi, życzliwość, wewnętrzny spokój, takt oraz poczucie humoru sprawiły, że Katedra Żywienia Człowieka była dobrze działającym zespołem, a praca – nie tylko obowiązkiem, ale i przyjemnością. Była jednocześnie przełożonym i przyjacielem, obdarzonym atencją i szacunkiem dla innych.

Prof. dr hab. Anna Leokadia Międzobrodzka zmarła 9 lutego 2017 r. w Krakowie. Uroczystości pogrzebowe odbyły się na Cmentarzu Salwatorskim. W imieniu społeczności akademickiej Uniwersytetu Rolniczego zmarłą pożegnali: JM Rektor Uniwersy-

tetu Rolniczego im H. Kołłątaja w Krakowie prof. dr hab. inż. Włodzimierz Sady, Dziekan Wydziału Technologii Żywności dr hab. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, prof. UR, a w imieniu Katedry Żywienia Człowieka Wydziału Technologii Żywności – prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska.

Odeszła od nas wyjątkowa, wspaniała i szanowana Osoba, Nauczyciel i Wychowawca licznych grona studentów.

*Prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska
Katedra Żywienia Człowieka
Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 27 Nr 1

marzec 2017

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2017 r.

Marzec

- 2 SIEDLCE = II Ogólnopolska Konferencja Naukowa nt. „Żywność – zdrowie – technologia – dystrybucja”**
Organizatorzy: Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Kontakt: zztd.2017@gmail.com
- 13 - 15 PRAGA, Czechy = 4th International Conference on Food Security and Nutrition (ICFSN 2017)**
Informacje: <http://www.icfsn.org/>
Kontakt: icfsn@cbees.net
Tel.: +852-3500-0137 (Hong Kong); +1-206-456-6022 (USA);
+86-28-86528465 (China)
- 30 - 31 PIEŠŤANY, Słowacja = XIV Scientific Conference with International Participation – “Food Safety and Control”**
Organizatorzy: Faculty of Biotechnology and Food Sciences of the Slovak University of Agriculture in Nitra, Department of Food Hygiene and Safety National Contact Point for Scientific and Technical Cooperation with EFSA - Ministry of Agriculture and Rural Development, Bratislava
Informacje: www.bezpecnostpotravin.sk
Kontakt: prof. Ing. Jozef Golian; e-mail: Jozef.Golian@uniag.sk
Tel.: +42137/6414 325

Kwiecień

- 24 - 26 KIRY k. ZAKOPANEGO = II Sympozjum Naukowe z cyklu „Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności”**

Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Sekcja Bezpieczeństwa Żywności Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu PAN
Kontakt: sympozjumkiry@onet.pl
Tel.: 22 593-70-75

26 - 28 KIRY k. ZAKOPANEGO = Krokusowe VIII Sympozjum Naukowe z cyklu „Probiotyki w żywności”

Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności
Kontakt: dr inż. A. Szydłowska; e-mail: sympozjumprobiotyki2017@wp.pl
Tel.: 22 593-70-79

Maj

18 - 19 SZCZECIN = XXII Sesja Naukowa SMKN nt. „Żywność – dzisiaj i jutro” oraz VI International Session of Young Scientific Staff

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, Oddział Szczeciński Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego
Informacje: http://www.pttz.zut.edu.pl/konferencja_XXII/
Kontakt: dr inż. Agnieszka Strzelczak
e-mail: agstrzelczak@zut.edu.pl; Tel.: 91 440 65 36

25 - 26 NIEBORÓW = X Ogólnopolska Naukowa Konferencja Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw nt. „Owoce, warzywa, grzyby – innowacje w surowcach i przetwórstwie”

Organizatorzy: Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności – Oddział Warszawski i Oddział Łódzki
Informacje: www.inhort.pl/przetworstwo
Kontakt: xktpow@inhort.pl

Czerwiec

19 - 21 KRAKÓW - NIEPOŁOMICE = X Krajowa Jubileuszowa Konferencja Naukowa nt. „Zarządzanie jakością w przestrzeni organizacyjno-społecznej. Doświadczenia i perspektywy” oraz III International Scientific Conference „Quality Management in Organizational and Social Space. Experiences and Perspectives”

Organizatorzy: Katedra Zarządzania Jakością Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie

Informacje: <http://nowa.uek.krakow.pl/files/common/wydzial-towaroznawstwa/katedra-zarzadzania-jakoscia/konferencja/Konferencja2017!KZJ.pdf>

Kontakt: mgr inż. Dominika Socha

e-mail: quality@uek.krakow.pl; Tel.: 12 293 55 83

19 - 22 POZNAŃ = 14th International Commodity Science Conference (IComSC) “Current Trends in Commodity Science”

Organizatorzy: Wydział Towaroznawstwa Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu

Informacje: <http://icomsc.ue.poznan.pl/>

Kontakt: dr Hanna Śmigielska

e-mail: hanna.smigielska@ue.poznan.pl; Tel.: 61 856 90 22

Lipiec

4 - 5 WROCŁAW = XLIII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu Polskiej Akademii Nauk nt. „Żywność dla przyszłości”

Organizatorzy: Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN, Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności

Informacje: <http://wnoz.up.wroc.pl/pan>

Kontakt: pan@wnoz.up.wroc.pl

Tel.: 71 320-77-72; 71 320-77-81

24 - 26 VANCOUVER, Kanada = 2nd International Conference on Food Chemistry and Hydrocolloids

Informacje: foodchemistry.conferenceseries.com

Kontakt: foodchemistry@conferenceseries.net

Wrzesień

7 - 8 PUŁAWY = Międzynarodowa Konferencja Naukowa nt. „Spójność łańcucha żywnościowego – aspekty prawne i praktyczne”

Organizatorzy: Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy

Informacje: http://www.piwet.pulawy.pl/piwet7/index_b.php?strona=konfsymp1

25 – 26 CZĘSTOCHOWA = VII Ogólnopolska Konferencja Naukowa z cyklu Żywność – Żywienie – Dietetyka nt. „Dietetyka w gastronomii i cateringu”

Organizatorzy: Akademia im. J. Długosza w Częstochowie, Wyższa Szkoła Hotelarstwa i Turystyki, Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności

Informacje: www.dietkonf.ajd.czyst.pl

Kontakt: mgr Sylwia Ptak

e-mail: dietkonf@ajd.czyst.pl

Październik

- 4 - 5 LIZBONA, Portugalia = XV International Conference on Food Science and Biotechnology
Informacje: <http://waset.org/conference/2017/10/lisbon/ICFSB>
- 15 - 20 BUENOS AIRES, Argentyna = IUNS 21st ICN International Congress of Nutrition – “From Sciences to Nutrition Security”
Organizatorzy: The Sociedad Argentina de Nutrición (SAN), International Union of Nutritional Sciences
Informacje: <http://icn2017.com>
Kontakt: info@iuns-icn2017.com

Listopad

- 9 - 10 **ŁÓDŹ = 2nd International Conference Biologically Active Compounds in Food**
Organizator: Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności – Oddział Łódzki
Informacje: <http://bacif2017.p.lodz.pl/index.html>
Kontakt: Beata Smolińska
e-mail: bacif2017@info.p.lodz.pl

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSTCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**
Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Materiał zawarty w Nr 1(110)/2017 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 marca 2017 r. Materiały do Nr 2(111)/2017 prosimy nadsyłać do 15 czerwca 2017 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKATY

Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne publikujemy na nowej stronie internetowej <http://www.wydawnictwo.pttz.org>

Przypominamy Państwu o nowym adresie internetowym Wydawnictwa – e-mail: redakcja@pttz.org

Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Agnieszka Kita Prezes PTTŻ	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 62; e-mail: agnieszka.kita@up.wroc.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Joanna Kawa-Rygielska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 64; 71 320 52 04 e-mail: joanna.kawa-rygielska@upwr.edu.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Aleksandra Wilczyńska, Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: a.wilczynska@wpit.am.gdynia.pl
Dr hab. inż. Małgorzata Karwowska Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: 81 462 33 41; e-mail: malgorzata.karwowska@up.lublin.pl
Dr hab. inż. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Prof. dr hab. Lesław Juszcak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 12 662 47 78; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl
Dr inż. Janusz Pomianowski Oddział Olsztyński	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-957 OLSZTYN Tel.: 89 523 36 17; e-mail: Pomian@uwm.edu.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Małgorzata Dżugan Oddział Podkarpacki	UR w Rzeszowie, ul. M. Ćwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW Tel. 17 872 16 19; e-mail: mdzugan@ur.edu.pl
Dr hab. Izabela Dmytrów Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 SZCZECIN Tel.: 507 104 101; e-mail: izabela.dmytrow@gmail.com
Dr hab. inż. Ewa Jakubczyk Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 22 593 75 62; e-mail: ewa_jakubczyk@sggw.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 73 47; e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Joanna Kawa-Rygielska Oddział Wrocławski	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 54 77; e-mail: pttz_ow@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	Politechnika Koszalińska, ul. Kwiatkowskiego 6e, 75-343 KOSZALIN Tel.: 609 807 618; e-mail: janjasienczyk@poczta.onet.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Technologii Mięsa	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr hab. Magdalena Rudzińska Chemii i Technologii Tłuszczów	UP, Ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 76; e-mail: magdar@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Antoni Gołachowski Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 68; e-mail: antoni.golachowski@upwr.edu.pl
Prof. dr hab. Piotr Gębczyński Chemii i Technologii Owoców i Warzyw	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW e-mail: rrgebczy@cyf-kr.edu.pl
Mgr inż. Monika Przeor Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: m.przeor@up.poznan.pl