



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 2 (123)

Kraków 2020

Rok 27

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Lesław Juszczyk; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl; tel. 12 662-47-78
Zastępca redaktora naczelnego: dr hab. inż. Mariusz Witczak, prof. UR
Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): mgr inż. Jadwiga Ślawska; e-mail: redakcja@pttz.org; tel. 12 662-48-30; 609-800-458

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 hab. 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 Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Mariola Friedrich, prof. dr Jozef Golian (Słowacja), prof. dr hab. Anna Gramza-Michałowska, prof. dr hab. Waldemar Gustaw, prof. dr Jerzy Jankun (USA), prof. dr hab. Henryk Jeleń, prof. dr Miroslava Kačániová (Słowacja), prof. dr hab. Agnieszka Kita, prof. dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, prof. dr hab. Katarzyna Majewska, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr hab. Mariusz Piskula, prof. dr Jan Pokorný (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sośnicki (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada).

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2020*
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 „Akapit”, Kraków

Tel. 608 024 572

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

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 2 (123)

Kraków 2020

Rok 27

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
DAMIAN BARANOWSKI, JAROSŁAWA RUTKOWSKA, AGATA ANTONIEWSKA: Ksylitol – rola technologiczna i żywieniowa	5
MARCELINA KARBOWIAK, DOROTA ZIELIŃSKA: Postbiotyki – właściwości, zastosowanie i wpływ na zdrowie człowieka.....	21
JAGODA O. SZAFRAŃSKA, MAGDALENA POLAK-BERECKA: Plantarycyny – biosynteza, mechanizm działania i potencjał w zapewnianiu bezpieczeństwa żywności	38
MAGDALENA KOWALCZYK, AGATA ZNAMIROWSKA: Próba zastosowania β -D-galaktozydazy do produkcji probiotycznych lodów mlecznych	50
KAROLINA PYCIA, IRENEUSZ KAPUSTA: Wpływ stopnia dojrzałości oraz wielkości dodatku orzechów laskowych i włoskich na właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające wzbogaconego chleba pszennego	62
JOANNA KASZUBA, ZUZANNA POSADZKA, BARBARA KOGUT, GRAŻYNA JAWORSKA, PIOTR KUŹNIAR, AGNIESZKA ŁUKASZEK: Porównanie jakości muffin bezglutenowych z mąki jaglanej i gryczanej	82
AGNIESZKA DUDKIEWICZ, BARTŁOMIEJ KOŹNIEWSKI, ANNA SZYMAŃSKA: Zastosowanie spektroskopii bliskiej podczerwieni do analizy wartości odżywczej produktów garmażeryjnych i makaronów dostępnych na polskim rynku	96
WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA, KATARZYNA KAJAK-SIEMASZKO, PIOTR SAŁEK, MATEUSZ LUBAŃSKI: Ocena produktów mięsnych z dodatkiem wybranych substancji bioaktywnych	107
ANNA FLIS-KACZYKOWSKA, PRZEMYSŁAW DMOWSKI: Ocena wybranych wyróżników jakości owoców cytrusowych.....	121
NATALIA ŻUREK, IRENEUSZ KAPUSTA, TOMASZ CEBULAK: Wpływ warunków ekstrakcji na potencjał przeciwutleniający wyciągów z kwiatów, liści i owoców głogu (<i>Crataegus × Macrocarpa</i> L.)	130
GRZEGORZ SUWAŁA: Identyfikacja fałszowania frakcji tłuszczowej wybranych czekolad	142
MAGDALENA NIEWCZAS-DOBROWOLSKA, TADEUSZ SIKORA: Ocena postrzegania ryzyka wybranych zagrożeń w żywności przy wykorzystaniu wskaźnika ryzyka żywnościowego (PFRI).....	156
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	170
ALEKSANDRA WILCZYŃSKA: Jubileusz 50-lecia pracy naukowej prof. dr. hab. inż. Piotra Przybyłowskiego.....	173
Technolog Żywności.....	177

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 2 (123)

Kraków 2020

Vol. 27

CONTENTS

From the Editor.....	3
DAMIAN BARANOWSKI, JAROSŁAWA RUTKOWSKA, AGATA ANTONIEWSKA: Xylitol – technological and nutritional aspects	5
MARCELINA KARBOWIAK, DOROTA ZIELIŃSKA: Postbiotics – properties, application and impact on human health	21
JAGODA O. SZAFRAŃSKA, MAGDALENA POLAK-BERECKA: Plantaricins – biosynthesis, mode of action and potential in ensuring food safety	38
MAGDALENA KOWALCZYK, AGATA ZNAMIROWSKA: An attempt to use β -D-galactosidase in the production of probiotic milk ice cream	50
KAROLINA PYCIA, IRENEUSZ KAPUSTA: Effect of hazelnut and walnut maturity stage and of amount of their additive on physicochemical and antioxidant properties of enriched wheat bread.....	62
JOANNA KASZUBA, ZUZANNA POSADZKA, BARBARA KOGUT, GRAŻYNA JAWORSKA, PIOTR KUŹNIAR, AGNIESZKA ŁUKASZEK: Quality assesment of gluten-free muffins from millet and buckweat flours	82
AGNIESZKA DUDKIEWICZ, BARTŁOMIEJ KOŹNIEWSKI, ANNA SZYMAŃSKA: Application of near infrared spectroscopy to analyse nutritional value of deli products and pastas available on Polish market	96
WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA, KATARZYNA KAJAK-SIEMASZKO, PIOTR SAŁEK, MATEUSZ LUBAŃSKI: An assessment of meat products with added selected bioactive substances	107
ANNA FLIS-KACZYKOWSKA, PRZEMYSŁAW DMOWSKI: Assessing some selected quality features of citrus fruits	121
NATALIA ŻUREK, IRENEUSZ KAPUSTA, TOMASZ CEBULAK: Impact of extraction conditions on antioxidant potential of extracts of flowers, leaves and fruits of hawthorn (<i>Crataegus</i> × <i>Macrocarpa</i> L.)	130
GRZEGORZ SUWAŁA: Identification of adulterated fat fraction in selected chocolates	142
MAGDALENA NIEWCZAS-DOBROWOLSKA, TADEUSZ SIKORA: Evaluation of risk perception of selected food hazards using Perceived Food Risk Index (PFRI)	156
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	170
ALEKSANDRA WILCZYŃSKA: The 50 th anniversary of scientific work of prof. dr hab. eng. Piotr Przybyłowski.....	173
The Food Technologist.....	177

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

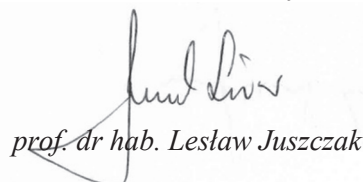
przekazujemy Państwu nr 2 (123) czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, w którym publikujemy artykuły naukowe o zróżnicowanej tematyce badawczej, zawierające wyniki badań z krajowych ośrodków zajmujących się szeroko pojętą nauką o żywności. Zapraszamy również do lektury stałych działów.

W ramach uproszczenia cyklu wydawniczego Redakcja uruchomiła na stronie internetowej czasopisma elektroniczny system (Editorial System) zgłaszania prac do opublikowania. W systemie tym funkcjonuje również panel recenzyjny wspomagający ocenę przysyłanych prac i samą pracę recenzentów. Działanie to było możliwe dzięki wsparciu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego środkami przeznaczonymi na działalność upowszechniającą naukę. Mamy nadzieję, że wdrożenie nowej procedury zgłaszania artykułów będzie stanowić ułatwienie w działalności publikacyjnej.

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

Kraków, czerwiec 2020 r.

Redaktor Naczelny



prof. dr hab. Lesław Juszcak

KOMUNIKAT

W latach 2019 – 2020 Wydawnictwo Naukowe PTTŻ realizuje zadanie z zakresu upowszechniania publikacji naukowych, które ukazały się na łamach czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość:

„Digitalizacja publikacji naukowych wydanych w czasopiśmie Żywność. Nauka. Technologia. Jakość w latach 2019-2020 w celu zapewnienia otwartego dostępu do nich przez sieć Internet”.



**Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego**

Zadanie finansowane jest w ramach umowy nr 900/P-DUN/2019 ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego przeznaczonych na działalność upowszechniającą naukę.

DAMIAN BARANOWSKI, JAROSŁAWA RUTKOWSKA,
AGATA ANTONIEWSKA

KSYLITOL – ROLA TECHNOLOGICZNA I ŻYWIENIOWA

Streszczenie

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczącej ksylitolu jako substancji słodzącej, stanowiącej alternatywę dla powszechnie stosowanych syropów fruktozowo-glukozowych i sacharozy w produktach spożywczych.

Ksylitol jest pięciowęglowym alkoholem cukrowym, występującym naturalnie głównie w produktach pochodzenia roślinnego. Na skalę przemysłową otrzymywany jest w procesie uwodornienia ksylozy. Jest najśłodszy z polioli o względnej słodkości porównywalnej z sacharozą. Ksylitol (E 967) został dopuszczony w krajach Unii Europejskiej jako dodatek do żywności na poziomie *quantum satis* w większości produktów spożywczych. Organy ds. bezpieczeństwa żywności, takie jak JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives), SCF (Scientific Committee on Food) czy FDA (Food and Drug Administration) uznały ksylitol za bezpieczny środek słodzący.

Ksylitol może być stosowany nie tylko ze względu na kształtowanie słodkości w produktach spożywczych, ale również z uwagi na liczne właściwości prozdrowotne. Zaledwie 25 ÷ 50 % ksylitolu jest absorbowane w jelicie cienkim, a metabolizm ksylitolu zachodzi przy niewielkim udziale insuliny i prowadzi do nieznacznego podwyższenia poziomu glukozy we krwi, dlatego zalecany jest diabetykom, jak również osobom otyłym. Ksylitol jest również ceniony ze względu na udokumentowane właściwości przeciwpóchnicze (nie stanowi substratu do procesów energetycznych drobnoustrojów próchnicotwórczych, wpływa korzystnie na remineralizację szkliwa oraz obniża zdolność patogenów do adhezji do powierzchni zęba). Podawany w odpowiedniej dawce może wpływać również na obniżenie ryzyka wystąpienia ostrego zapalenia ucha środkowego u dzieci.

Słowa kluczowe: ksylitol, właściwości fizykochemiczne, zastosowanie w żywności, indeks glikemiczny, właściwości prozdrowotne

Wprowadzenie

Technolodzy żywności zainteresowani są stosowaniem w produktach żywnościowych alternatywnych środków słodzących w odniesieniu do sacharozy i syropów

Mgr inż. D. Baranowski, prof. dr hab. J. Rutkowska, dr inż. A. Antoniewska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.

Kontakt: damian_baranowski@sggw.edu.pl

fruktozowo-glukozowych, zawierających 42 ÷ 90 % fruktozy. Ze względu na korzystne właściwości funkcjonalne (m.in. wysoki RS, lepkość) syropy fruktozowo-glukozowe są powszechnie stosowane w wielu produktach. Wykazano jednak, że ich spożycie przyczynia się do powstawania niekorzystnych zmian w metabolizmie lipidów oraz do rozwoju otyłości, cukrzycy typu 2, chorób układu sercowo-naczyniowego, nadciśnienia tętniczego, dny moczanowej czy kamicy nerkowej [2, 3, 36].

W ostatnich latach na rynku produktów żywnościowych coraz większą rolę odgrywają alkohole wielowodorotlenowe (cukrowe) zwane polioli. Substancje słodzące stosowane są w celu nadania smaku słodkiego produktom, podczas gdy rola alkoholi wielowodorotlenowych w żywności jest znacznie większa. Związki te wykazują właściwości przeciwbrylające, glazurujące, chłodzące, utrzymujące wilgoć, a także mogą pełnić funkcję substancji wypełniających [9].

W przeciwieństwie do polioli, niektóre substancje intensywnie słodzące stosowane samodzielnie lub w połączeniu z innymi środkami słodzącymi mogą powodować pojawienie się niekorzystnego posmaku [9]. Alkohole wielowodorotlenowe wykazują korzystne oddziaływanie na zdrowie, czego nie wykazano w przypadku syntetycznych substancji słodzących typu aspartam, acesulfam K, sukraloza czy cyklamian sodu.

Jednym z najbardziej rozpowszechnionych polioli obecnym na rynku od lat 60. XX wieku, jako dodatek do żywności i środek słodzący, jest ksylitol. Wśród wszystkich polioli ksylitol charakteryzuje najwyższa słodkość porównywalna z sacharozą [27, 51], dlatego jego spożycie może się przyczyniać do ograniczenia stosowania w produktach cukrów prostych sprzyjających rozwojowi otyłości. Został odkryty w 1891 roku przez niemieckiego chemika Hermanna Emila Fischera. Początkowo ksylitol nie wzbudzał zainteresowania, jednak deficyt cukru podczas II Wojny Światowej skłonił naukowców do podjęcia badań nad jego właściwościami. Komercyjną produkcję ksylitolu rozpoczęto w latach 40. XX wieku. Głównym substratem do produkcji ksylitolu jest ksylan, który pozyskuje się zwykle z brzozy i dlatego nazywany jest „cukrem brzozowym” [46, 51].

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczącej wykorzystania ksylitolu jako potencjalnej substancji słodzącej zastępującej w żywności niekorzystne dla zdrowia cukry proste i syropy fruktozo-glukozowe. W pracy przedstawiono również aktualny stan wyników badań dotyczących wpływu ksylitolu na zdrowie oraz jego wykorzystanie w żywieniu człowieka.

Właściwości ksylitolu

Ksylitol jest pięciowęglowym, naturalnie występującym alkoholem cukrowym o wzorze chemicznym $C_5H_{12}O_5$ i masie cząsteczkowej 152,15 g/mol (tab. 1). Nieparzysta liczba atomów węgla sprawia, że struktura ta jest mniej dostępna dla drobnoustrojów jako źródło energii. Ze względu na to, że ksylitol nie zawiera grup aldehydowych

oraz ketonowych, nie ulega reakcjom Maillarda zachodzącym podczas obróbki cieplnej żywności [27].

Tabela 1. Chemiczne i fizyczne właściwości ksylitolu
Table 1. Chemical and physical properties of xylitol

Właściwości / Properties	Charakterystyka / Characteristics
Wzór empiryczny / Empirical formula	$C_5H_{12}O_5$
Synonimy / Synonyms	Uwodorniona ksyoza; ksylit Hydrogenated xylose; xylite
Masa cząsteczkowa / Molecular weight	152,15 g/mol
Forma chemiczna / Generic form	Pentitol
Wygląd / Appearance	Biały, krystaliczny proszek White, crystalline powder
Zapach / Odour	Bezzapachowy / Odourless
Względna słodkość / Relative sweetness	Zbliżona do sacharozy / Similar to sucrose
pH (w 10-procentowym roztworze wodnym) pH (in aqueous solution 10 %)	5 ÷ 7
Punkt topnienia / Melting point	92 ÷ 96 °C
Punkt wrzenia / Boiling point	216 °C
Rozpuszczalność w wodzie w 20 °C Solubility in water at 20 °C	169 g/100 g H ₂ O
Ciepło roztworu (endotermiczne) Solution heat (endothermic)	34,8 cal/g
Gęstość roztworu wodnego Density of aqueous solution	1,03 g/ml (10 %) 1,23 g/ml (60 %)
Skრęcerność właściwa / Specific rotation	Nieaktywny optycznie / Optically inactive

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie / the author's own study based on [27, 46]

Odczucie słodkości ksylitolu jest prawie takie samo jak sacharozy, natomiast wartość energetyczna jest niższa o ok. 40 % i wynosi 2,4 kcal/g produktu (sacharoza 4 kcal/g) [8, 27].

Rozpuszczalność ksylitolu w temperaturze pokojowej jest podobna do sacharozy, natomiast wyższa w podwyższonej temperaturze. Ta właściwość stanowi zaletę w przypadku tworzenia stężonych roztworów. Jest on stabilny w wysokich temperaturach i nie podlega procesowi karmelizacji. Ksylitol cechuje także wysokie ciepło endotermiczne roztworu (34,8 cal/g) objawiające się wyczuwalnym efektem chłodzenia. W porównaniu z erytrytolem efekt ten jest jednak znacznie mniejszy [8, 27, 46, 51].

Naturalne źródła ksylitolu w żywieniu człowieka

Ksylitol występuje w wielu owocach i warzywach, jak również w drożdżach, wodorostach czy grzybach, przez co zawsze był obecny w diecie człowieka [27, 51]. Największą zawartością ksylitolu charakteryzują się owoce i warzywa, takie jak śliwki, truskawki, kalafior. Śladowe jego ilości zawierają banany i kasztany jadalne (tab. 2).

Tabela 2. Zawartość ksylitolu w różnych surowcach roślinnych
Table 2. The content of xylitol in various vegetable raw materials

Produkt / Product	Zawartość ksylitolu [mg/100 g s.m.] Xylitol content [mg/100 g d.m.]
Śliwka odm. Renkloda Ulena / Greengage plum	935
Truskawka / Strawberry	362
Kalafior / Cauliflower	300
Roszonka warzywna / Lamb's lettuce	273
Malina / Raspberry	268
Cykoria endywia / Endive	258
Bakłażan / Aubergine	180
Sałata / Lettuce	131
Szpinak / Spinach	107
Dynia / Pumpkin	96,5
Kalarepa / Kohlrabi	94
Koper włoski / Fennel	92
Cebula / Onion	89
Marchew / Carrot	86,5
Por / Leek	53
Banan / Banana	21
Kasztan jadalny / Sweet chestnut	14

Źródło / Source: [48]

Otrzymywanie ksylitolu

Mimo że ksylitol w formie wolnej występuje w naturze, pozyskiwanie go z owoców, warzyw, wodorostów lub grzybów nie jest opłacalne ze względu na małą jego zawartość, nieprzekraczającą 1 %. Na skalę przemysłową wykorzystuje się surowce bogate w hemicelulozy [30, 51]. Głównym substratem jest ksylan – polisacharyd wchodzący w skład hemiceluloz, będący polimerem ksylozy, pozyskiwany zwykle z brzoź i innych drzew liściastych, jak również z kolb kukurydzy. Podobnie jak inne alkohole cukrowe, ksylitol otrzymywany jest w wyniku procesu uwodorniania odpowiedniego cukru, w tym przypadku D-ksylozy, w obecności metalu jako katalizatora

reakcji [30, 51]. Proces otrzymywania ksylitolu obejmuje cztery etapy i rozpoczyna się hydrolizą materiału roślinnego składającego się z hemiceluloz (19 ÷ 34 %), celulozy (34 ÷ 50 %) i ligniny (11 ÷ 30 %) przy użyciu kwasów nieorganicznych [30, 46]. Produkt będący hydrolizatem zawiera nie tylko ksylozę, lecz także arabinozę, glukozę, galaktozę i mannozę. Drugim etapem jest oczyszczanie otrzymanego hydrolizatu metodą chromatograficzną, w efekcie czego uzyskiwany jest oczyszczony roztwór ksylozy, będący substratem w kolejnym etapie – w chemicznym uwodornieniu. Powstały roztwór poddawany jest procesowi uwodornienia z udziałem katalizatora niklowego w warunkach podwyższonej temperatury (80 ÷ 140 °C) i ciśnienia (do 50 atm). Na tym etapie zachodzi reakcja redukcji ksylozy do ksylitolu [30, 46]. Ostatnim etapem jest poddanie roztworu ksylitolu filtracji, oczyszczaniu, zagęszczaniu w warunkach obniżonego ciśnienia i krystalizacji w celu uzyskania gotowego, czystego produktu. Odzysk ksylitolu z frakcji ksylanowej wynosi ok. 50 ÷ 60 %. Uzyskany produkt charakteryzuje się wysokim kosztem produkcji również ze względu na stosowane procesy separacji i oczyszczania [30, 46].

Wysokie koszty produkcji skłoniły do poszukiwań alternatywnych rozwiązań. Przykładem są badania nad możliwością pozyskiwania ksylitolu z różnych części kukurydzy, odpadów trzciny cukrowej lub słomy ryżowej. Aktualnie opracowywane i optymalizowane są również biotechnologiczne metody produkcji ksylitolu z udziałem drożdży z rodzaju *Candida*, mikroalg, a także izolowanych enzymów [11, 25, 28, 29, 30, 39, 46]. Prowadzi się także badania nad alternatywnymi, tańszymi metodami oczyszczania ksylitolu [16].

Bezpieczeństwo oraz ograniczenia stosowania ksylitolu w żywności i innych produktach

Ksylitol został dopuszczony jako dodatek do żywności i uznany za bezpieczny dla zdrowia i użytku człowieka przez organizacje zajmujące się bezpieczeństwem żywności. W 1983 roku Wspólny Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności (JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) zatwierdził dopuszczalną wielkość spożycia ksylitolu na poziomie ADI (*acceptable daily intake*), czyli jako nielimitowaną, przy braku konieczności wykonywania dodatkowych badań toksykologicznych. Niekorzystne efekty uboczne pojawiają się podczas spożycia wysokich dawek ksylitolu (dyskomfort, ból brzucha, wzdęcia, biegunki) [51]. Komitet Naukowy ds. Żywności (SCF – Scientific Committee on Food) będący przed EFSA (European Food Safety Authority – Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności) gwarantem bezpieczeństwa dodatków do żywności w Europie, w 1984 roku ocenił bezpieczeństwo większości polioli, w tym ksylitolu i zatwierdził ich stosowanie jako dodatków do żywności [26]. W 1986 roku również Agencja Żywności i Leków (FDA – Food and Drug Administration) uznała za bezpieczne stosowanie ksylitolu w żywności [46, 51].

Bezpieczeństwo stosowania ksylitolu potwierdzono zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* na mutagenność, klastogenność, embriotoksyczność, teratogenność i toksyczność reprodukcyjną [26, 51].

Jako dodatek do żywności (E 967), farmaceutyków i preparatów do higieny jamy ustnej ksylitol został uznany za bezpieczny do stosowania i zarejestrowany w ponad 35 krajach [46]. Stosowanie ksylitolu, jak i innych alkoholi cukrowych (z wyjątkami, np. w napojach), jest dozwolone zgodnie z prawem europejskim, a ich dopuszczalna zawartość w produktach spożywczych nie jest limitowana i obowiązuje zasada *quantum satis* [33]. Ustalając zawartość alkoholi cukrowych w produkcie żywnościowym należy jednak mieć na uwadze efekty niepożądane spowodowane nadmierną ilością ich spożycia [26]. Etykiety towarów, w których ponad 10 % masy produktu stanowią dodane poliole muszą zawierać informację, że spożycie ich w nadmiernych ilościach może spowodować efekt przeczyszczający [34]. Dobowa dawka tolerowana przez osoby dorosłe wynosi 100 g ksylitolu [8]. EFSA zaleca, aby spożycie ksylitolu nie przekraczało 0,5 g/kg m.c./dobę i traktuje to jako dawkę bezpieczną, niewywołującą efektów niepożądanych, przy spożywaniu w odstępach czasowych [4].

Ksylitol spożywany przez osoby zdrowe według zaleceń nie wywołuje negatywnych objawów, jednak nie jest zalecany osobom cierpiącym na zespół jelita drażliwego, u których podaż polioli i innych produktów niewskazanych wiąże się z intensyfikacją objawów, takich jak silne bóle brzucha, wzdęcia i biegunki [6, 38].

Schneider i wsp. [37] wykazali możliwość stosowania ksylitolu w żywieniu pozajelitowym pacjentów oddziałów intensywnej terapii. Oznaczenie u pacjentów poziomu enzymów wątrobowych (aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alani- nowej, γ -glutamylotranspeptydazy) nie wykazało symptomów hepatotoksycznego działania ksylitolu.

Zastosowanie ksylitolu w przemyśle spożywczym

Ksylitol jest substancją słodzącą, która znalazła zastosowanie w wielu działach przemysłu spożywczego [51]. Stosowany jest w składzie produktów żywnościowych samodzielnie lub w połączeniu z innymi zamiennikami cukru w celu polepszenia barwy, smaku, jak również trwałości produktów [46].

Ksylitol stosuje się na skalę światową głównie do produkcji gumy do żucia ze względu na jego właściwości technologiczne, sensoryczne (w tym z powodu efektu chłodzącego) i prozdrowotne. Guma do żucia wyprodukowana z dodatkiem ksylitolu charakteryzuje się większą miękkością i elastycznością niż produkty z zastosowaniem innych alkoholi wielowodorotlenowych [46, 51]. Ksylitolu używa się do wytwarzania bezcukrowych (tzw. sugar-free) wyrobów cukierniczych wysokiej jakości, takich jak landrynki i karmelki, nadając im pożądaną słodkość oraz efekt chłodzący [51]. Może być on również stosowany jako zamiennik sacharozy do produkcji przetworów mlec-

nych i mrożonych deserów, takich jak: jogurty, musy, budynie, lody, sorbety. Powstałe produkty charakteryzują się obniżoną wartością energetyczną, niższym indeksem glikemicznym, a także ułatwiają utrzymanie zdrowia jamy ustnej. Tekstura takich produktów charakteryzuje się większą delikatnością, wobec czego ich porcjowanie jest ułatwione [27, 51].

Szczególna rola przypada ksylitolowi w produktach ciastkarskich (ciastkach, ciastach, muffinach). W porównaniu z innymi alkoholami cukrowymi w produktach tych profil i intensywność słodkości ksylitolu zbliżone są do sacharozy. Równocześnie ksylitol jest skutecznym środkiem utrzymującym odpowiedni poziom wilgotności w produktach ciastkarskich, dlatego wpływa korzystnie na teksturę wypieków. Ciastka z ksylitolem charakteryzują się większą delikatnością i miękkością, podczas gdy ciastka z sacharozą są twardsze, bardziej chrupkie i suche. Warto zauważyć, że ciastka z ksylitolem mogą być dłużej przechowywane bez zmian tekstury. Wykazano, że w trakcie 3-miesięcznego przechowywania w temperaturze pokojowej ciastka z sacharozą utraciły chrupkość, podczas gdy ciastka z ksylitolem nie wykazały znaczących zmian tekstury [7, 51]. Ponadto ksylitol znajduje zastosowanie w produkcji bezcukrowych czekolad, nadzienia i dżemów [27].

Metabolizm ksylitolu w organizmie człowieka

Ksylitol, podobnie jak większość polioli, nie jest całkowicie absorbowany z przewodu pokarmowego przede wszystkim przez brak specyficznego systemu transportującego przez śluzówkę jelita. Po spożyciu ksylitolu jedynie 25 ÷ 50 % dawki jest absorbowane w jelicie cienkim. Po wejściu w wątrobowy cykl metaboliczny ksylitol jest wychwytywany przez hepatocyty i metabolizowany w szlaku pentozofosforanowym. Szlak ten zapewnia transformację ksylitolu do półproduktów szlaku glikolitycznego, umożliwiając dalszą degradację lub ostateczne przekształcenie w glikogen. Jedynie znikome ilości ksylitolu są przekształcane w wątrobie w glukozę, dlatego jego spożycie nie ma znaczącego wpływu na stężenie tego związku we krwi i na sekrecję insuliny [51].

Dawka ksylitolu, która nie uległa absorpcji w jelicie cienkim (ok. 50 ÷ 75 %) przekazywana jest do dalszej części jelit, gdzie stanowi substrat do fermentacji dla bytującej w jelicie korzystnej mikroflory, wykazując tym samym efekt prebiotyczny. Produktami tego procesu są przede wszystkim krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCSFA) – np. masłowy, octowy, propionowy – a także niewielkie ilości gazów (wodoru, metanu i dwutlenku węgla). Wytworzone kwasy tłuszczowe są następnie absorbowane z jelita i metabolizowane. Kwasy octowy i masłowy trafiają do wątroby, a produkty ich metabolizmu biorą udział w syntezie acetylo-koenzymu A. Kwas propionowy również jest prawie całkowicie metabolizowany w wątrobie i wykorzystywany do produkcji propionilo-CoA [51].

Ksylitol w profilaktyce i leczeniu chorób

Ksylitol jako prebiotyk

Jak wspomniano wyżej, ksylitol, podobnie jak inne alkohole wielowodorotlenowe, nie jest całkowicie wchłaniany w przewodzie pokarmowym. Pozostała, niewchłonięta część tego związku przedostaje się do jelita grubego i pobudza aktywność oraz wzrost korzystnej mikroflory jelitowej, takiej jak bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. W efekcie przeprowadzanej przez nie fermentacji powstają SCSFA i wskutek tego pH w jelicie ulega obniżeniu. Następstwem syntezy SCSFA jest zahamowanie wzrostu szkodliwych Gram-ujemnych bakterii z rodzaju *Bacterioides* oraz z grupy *coli* [27, 51].

Utrzymanie w jelicie optymalnego dla rozwoju korzystnej mikroflory pH wpływa na polepszenie funkcjonowania oraz utrzymania zdrowego stanu nabłonka i w efekcie obniża ryzyko chorób jelita. Ponadto obniżone pH w jelicie grubym wspomaga wchłanianie jonów wapnia, jak również ogranicza tworzenie się i wchłanianie szkodliwego amoniaku [27, 32, 51].

Otyłość

Ksylitol znajduje zastosowanie w zapobieganiu i ograniczaniu otyłości jako niskokaloryczny substytut cukrów prostych, stosowany w żywności typu „light” lub „bez cukru”. Ksylitol używany jest do produkcji ciastek, deserów, cukierków i innych słodczy, a także dżemów przeznaczonych dla diabetyków i osób stosujących dietę ograniczającą spożycie cukrów prostych. W efekcie badań przeprowadzonych na zwierzętach stwierdzono, że włączenie ksylitolu do codziennej diety może przyczynić się również do zmniejszenia stężenia triacylogliceroli i cholesterolu we krwi (tab. 3) [8, 12, 27, 46, 50].

Powszechnie wiadomo, że nadwaga i otyłość są ściśle związane z występowaniem dodatniego bilansu energetycznego oraz m.in. z zaburzeniami związanymi z odczuwaniem głodu i sytości. W badaniach klinicznych wykazano, że spożycie ksylitolu wywołuje relatywnie szybkie uczucie sytości i redukuje spożycie energii o 5 ÷ 25 %. Mechanizm ten może być związany z wolniejszym opróżnianiem żołądka w przypadku spożycia żywności z ksylitolem w porównaniu z tradycyjnym cukrowym odpowiednikiem. Przyczynia się to do zachowania optymalnego bilansu energetycznego i zahamowania nadmiernej akumulacji tkanki tłuszczowej [1, 49, 50, 51].

Tabela 3. Podsumowanie wyników badań dotyczących wpływu spożycia ksylitolu na zdrowie

Table 3. Summary of studies investigating xylitol intake in relation to health

Dawka i sposób podania ksylitolu Xylitol dose and administration method	Czas badania Period of study	Badana grupa The study group	Efekt Effect	Źródło Reference
Działanie przeciwcukrzycowe ¹ oraz w kierunku zapobiegania otyłości				
10-procentowy roztwór ksylitolu podany <i>ad libitum</i>	5 tyg.	Badania na modelu zwierzęcym (3 grupy szczurów): - 1 grupa z cukrzycą ¹ , otrzymująca ksylitol, - 2 grupy kontrolne: zwierzęta zdrowe, zwierzęta z cukrzycą ¹ . Liczba zwierząt: 21	W grupie z cukrzycą otrzymującej ksylitol – obniżenie poziomu glukozy we krwi z 500 mg/dl na 100 mg/dl. Niższy poziom cholesterolu i frakcji LDL w grupie otrzymującej ksylitol w porównaniu z grupami kontrolnymi po 5 tyg. doświadczenia.	[12]
- Grupy doświad. 1 g ksylitolu + 2 g glukozy/kg m.c. jednorazowo - Grupy kontrolne glukoza	3 tyg.	Badania na modelu zwierzęcym (4 grupy szczurów): - 2 grupy otrzymujące ksylitol + glukozę (zdrowe i z cukrzycą ¹), - 2 grupy kontrolne otrzymujące glukozę (zdrowe i z cukrzycą ¹). Liczba zwierząt: 24	Spowolnienie opróżniania żołądka oraz zmniejszenie wchłanianie glukozy w grupach otrzymujących ksylitol.	[1]
Roztwór ksylitolu o różnym stężeniu: 2,5, 5 oraz 10 %	4 tyg.	Badania na modelu zwierzęcym - 4 grupy szczurów z cukrzycą ¹ otrzymujących roztwór o różnym stężeniu ksylitolu oraz 1 grupa kontrolna zwierząt zdrowych. Liczba zwierząt: 35	Zmniejszenie: masy ciała, pobrania pokarmu i płynów, poziomu glukozy we krwi, poziomu enzymów wątrobowych oraz poprawa parametrów lipidowych w grupie zwierząt z cukrzycą ¹ otrzymującej 10-procentowy roztwór ksylitolu w porównaniu z grupą kontrolną z cukrzycą ¹ .	[31]
Podanie dożołądkowe przez sondę roztworów: - 50 g ksylitolu/300 ml wody, - 75 g erytrytolu/300 ml wody, - 75 g glukozy/300 ml wody, - 300 ml wody	Jednorazowo podczas 4 niezależnych sesji	20 osób Wiek: 20 - 48 lat (10 otyłych i 10 z BMI 18 - 25)	Stymulacja wydzielania hormonów jelitowych oraz spowalnianie opróżniania żołądka po podaniu polioli. Efekt uboczny – wystąpienie wzdęć i biegunek u 70 % badanych.	[49]

c.d. Tab. 3.

Zmniejszenie częstotliwości występowania zapalenia ucha środkowego				
Guma do żucia 8,4 g/dobę 5 × dziennie	2 mies.	Dzieci zdrowe Wiek: 5 - 7 lat 336 osób (dwie grupy otrzymujące ksylitol lub sacharozę)	Zmniejszenie częstotliwości u 40 % badanych.	[44]
- Guma do żucia (8,4 g) - Roztwór (10 g) - Tabletki do ssania (10 g) 5 × dziennie	3 mies.	Dzieci zdrowe Wiek: 1 - 6 lat 857 osób	Zmniejszenie częstotliwości: guma do żucia – u 40 % badanych; roztwór – u 30 % badanych; tabletki do ssania – u 20 % badanych.	[45]
- Guma do żucia (8,4 g) - Roztwór (10 g) - Tabletki do ssania (8,4 g) 5 × dziennie	3 tyg.	Dzieci z ostrą infekcją dróg oddechowych. Wiek: 10 mies. - 7 lat 1277 osób	Nieskuteczny w przypadku ostrej infekcji dróg oddechowych.	[41]
- Guma do żucia (9,6 g) - Roztwór (9,6 g) 3 × dziennie	3 mies.	Dzieci zdrowe Wiek: 7 mies. - 7 lat 663 osoby	Nie stwierdzono zmniejszenia częstotliwości występowania zapalenia ucha środkowego.	[10]
Zmniejszenie częstotliwości występowania próchnicy				
Guma do żucia: - 3,4 g ksylitolu/dobę - 0,8 g ksylitolu i 2,6 g sorbitolu/dobę 3 × dziennie Czas żucia: 5 min	12 mies.	Dzieci Wiek: 8 - 9 lat 433 osoby	Zmniejszona częstotliwość występowania próchnicy. Brak istotnych różnic między grupami otrzymującymi różne poliole.	[14]
Guma do żucia: - 3,44 g ksylitolu/dobę - 6,88 g ksylitolu/dobę - 10,32 g ksylitolu/dobę 4 × dziennie	6 mies.	Osoby dorosłe Wiek: 18 - 73 lat 4 grupy 132 osoby	Skuteczność w zmniejszaniu populacji <i>S. mutans</i> w płytce nazębnej w grupach stosujących wyższe zawartości ksylitolu (6,88 i 10,32 g/dobę).	[23]
Żelki: - 11,7 g ksylitolu/dobę - 15,6 g ksylitolu/dobę 3 × dziennie	6 tyg.	Dzieci - 154 uczniów klas 1 - 5 szkoły podst.	Zmniejszenie populacji <i>S. mutans</i> w płytce nazębnej. Nieznacznie większy efekt przy wyższej podaży ksylitolu.	[18]
Syrop: 8 g ksylitolu/dobę 2 lub 3 × dziennie	12 mies.	Dzieci Wiek: 9 - 15 mies. 108 osób	Zmniejszenie częstotliwości występowania próchnicy nawet do 70 %.	[24]
Cukierki zawierające: ksylitol, erytrytol lub sorbitol - 7,5 g polioli 3 × dziennie ²	3 lata	Dzieci Wiek: 7 - 8 lat 4 grupy 485 osób	Ograniczanie gromadzenia się płytki nazębnej, jednak nie tak znaczące jak w poprzednich badaniach ²	[35]

Objaśnienia / Explanatory notes:

¹ – Cukrzyca typu 2; ² – 3 dawki cukierków były spożywane w krótkim czasie do godz. 14:00.

Cukrzyca

Jedną z największych zalet ksylitolu jest możliwość jego spożywania przez diabetyków ze względu na bardzo niską odpowiedź glikemiczną organizmu w porównaniu z sacharozą. Indeks glikemiczny ksylitolu wynosi 13 [8, 12, 17], a sacharozy – 65 [12, 17]. W odróżnieniu od metabolizmu cukrów prostych, powolna i częściowa absorpcja ksylitolu w jelicie cienkim wpływa w niewielkim stopniu na zwiększenie stężenia glukozy we krwi, co czyni go bezpiecznym dla osób z cukrzycą typu 1 i 2 [8, 12, 17, 50, 51].

Mimo że ksylitol jest w stanie dotrzeć do niemal każdej komórki organizmu, hepatocyty są dla niego wyjątkowo przepuszczalne, a dzięki licznym enzymom jest szybko metabolizowany. D-glukoza będąca produktem metabolizmu ksylitolu, jest najpierw magazynowana w wątrobie jako glikogen, a następnie stopniowo uwalniana, nie wywołując gwałtownej sekrecji insuliny [27]. Właśnie dlatego ksylitol uważa się za substancję słodzącą odpowiednią dla diabetyków, niewywołującą efektu znacznego wzrostu stężenia glukozy we krwi. Ta cecha pozwala na stosowanie ksylitolu w produktach przeznaczonych dla osób z cukrzycą. W badaniach na modelu zwierzęcym stwierdzono, że spożycie ksylitolu może przyczyniać się do obniżania poziomu glukozy we krwi pacjentów chorych na cukrzycę typu 2 (tab. 3) [12, 27, 51].

Próchnica

Próchnica zębów jest efektem rozwoju bakterii bytujących na płycie nazębnej. Wśród czynników rozwoju próchnicy kluczowym jest częste spożycie cukrów prostych, niewystarczająca higiena jamy ustnej, ale również niska sekrecja śliny. Drobnoustrojami odpowiedzialnymi za ten proces są głównie *Streptococcus mutans*, które wytwarzają kwas mlekowy z cukrów prostych. Kwas mlekowy na płycie nazębnej powoduje demineralizację szkliwa, a następnie zębiny. Dodatkowo drobnoustroje syntetyzują polisacharydy, co powoduje zwiększenie adhezji płytki do powierzchni zęba. Im szybciej bakterie skolonizują powierzchnię zęba i im większa jest ich ilość, tym większe ryzyko rozwoju próchnicy [5, 13, 27, 43].

Właściwości przeciwpróchnicze są jedną z najcenniejszych cech ksylitolu i wynikają między innymi z tego, że bakterie rodzaju *Streptococcus* nie są w stanie go fermentować [19, 22]. Istnieje kilka mechanizmów hamujących rozwój próchnicy związanych z ksylitolem. Ksylitol nie jest substratem w procesach energetycznych drobnoustrojów jamy ustnej, dzięki czemu bakterie odpowiedzialne za powstawanie próchnicy nie mogą przekształcić go w kwasy, co ogranicza rozwój płytki nazębnej przez brak optymalnego pH dla drobnoustrojów [5, 8, 17, 19].

Innym przeciwpróchnicznym efektem spożywania ksylitolu jest wpływ na zwiększenie produkcji śliny. Obecność ksylitolu stabilizuje również jony wapnia i fosforu, częściowo naśladując funkcje peptydów regulujących poziom tych jonów w ślinie. Ich

właściwy poziom wspiera proces remineralizacji zębów, co w konsekwencji prowadzi do cofnięcia próchnicy w początkowym jej stadium [5, 21, 22, 27].

Ponadto ksylitol ogranicza zdolność przylegania niektórych szczepów *Streptococcus mutans* do szkliwa zębów, co wiąże się z tym, że ten alkohol cukrowy nie jest substratem w syntezie polisacharydów. Zmniejszenie ilości nierozpuszczalnych polisacharydów płytki nazębnej wytwarzanych przez te bakterie powoduje, że płytka nazębna wykazuje mniejszą adhezję do szkliwa i łatwiej ją usunąć. Dlatego też tworzenie się biofilmu jest hamowane, co zmniejsza ryzyko wystąpienia próchnicy [5, 51].

Przeciwp próchnicy mechanizm działania ksylitolu wiąże się z jego włączeniem do systemu fosfotransferazy fruktozowej w komórce *Streptococcus mutans*, w którym następuje jego fosforylacja do fosforanu-5-ksylitolu. Wskutek kumulacji tego związku następuje degradacja ścian komórkowych drobnoustrojów, co prowadzi do osłabienia struktury komórkowej i obumarcia drobnoustrojów. Toksyczny dla *Streptococcus mutans* fosforan-5-ksylitolu ulega defosforylacji i jest usuwany z komórki z wydzieleniem energii. W efekcie tzw. „bezcelowy cykl ksylitolowy” (ang. „*futile xylitol cycle*”) charakteryzuje się ujemnym bilansem energetycznym, skutkując inhibicją wzrostu bakterii [5, 13, 20, 51].

W celu profilaktyki próchnicy zalecane jest żucie gumy z dodatkiem ksylitolu po posiłkach zasobnych w cukier [8]. Skuteczność takich zabiegów potwierdzają również wyniki badań z udziałem ludzi (tab. 3).

Zapalenie ucha środkowego

Zapalenie ucha środkowego to druga najbardziej powszechna infekcja wśród dzieci występująca najczęściej do 3. roku życia. Stan zapalny powodowany jest przez bakterie infekujące jamę nosowo-gardłową przedostające się do ucha środkowego przez trąbkę Eustachiusza [27, 51].

Antybiotykowe leczenie ostrego zapalenia ucha środkowego jest bardzo kosztowne i budzi obawy związane z rozwojem opornych na antybiotyki szczepów bakterii. Leczenie chirurgiczne jest zarówno inwazyjne, jak również kosztowne. Alternatywą może być profilaktyczne podawanie ksylitolu [41, 47].

Ksylitol aktywnie przeciwdziała stanom zapalnym, gdyż hamuje rozwój przede wszystkim bakterii *Streptococcus pneumoniae*, ale także *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis*. Jednym z produktów metabolizmu tego polioliu jest fosforan-5-ksylitolu. Bakterie te nie metabolizują wymienionego związku, dlatego kumuluje się on w komórkach. W efekcie nadmiar fosforanu-5-ksylitolu staje się toksyczny dla bakterii, zmniejsza ich zdolność do adhezji oraz do wzrostu, rozwoju i funkcjonowania. Jednakże warto zaznaczyć, że efekt ten jest eliminowany, jeżeli wraz z ksylitolem występuje podaż fruktozy [15, 40, 42].

Uhari i wsp. [44, 45] wykazali, że regularne spożywanie ksylitolu (pięć razy dziennie w dawce $8,4 \div 10$ g/dobę) w postaci roztworu, tabletek do ssania lub gumy do żucia, może obniżyć występowanie zapalenia ucha środkowego u dzieci nawet o 40 % (tab. 3). Inni autorzy podają, że ostra infekcja dróg oddechowych obniża korzystny efekt działania ksylitolu [41]. Również niższa częstotliwość podaży ksylitolu (3 razy dziennie) przy zachowaniu dobowej dawki $8,4 \div 10$ g bądź jej zwiększeniu do 15 g nie skutkuje istotnym efektem zmniejszenia częstotliwości zachorowań [10, 47]. Spożycie ksylitolu może wpływać na zmniejszenie ryzyka zachorowania na zapalenie ucha środkowego, jednak przy zapewnieniu odpowiedniej częstotliwości spożycia.

Podsumowanie

Ksylitol jako niskoenergetyczna substancja słodząca może z powodzeniem zastępować w produktach spożywczych niekorzystne dla zdrowia syropy fruktozowo-glukozowe i sacharozę. Występuje naturalnie w wielu surowcach pochodzenia roślinnego, a jego największą zawartość stwierdzono w śliwkach, truskawkach oraz kalafiorach. Warto zauważyć, że zaledwie $25 \div 50$ % ksylitolu jest absorbowane w jelicie cienkim, a metabolizm ksylitolu zachodzi przy niewielkim udziale insuliny i prowadzi do nieznacznego podwyższenia poziomu glukozy we krwi. Z tego powodu ksylitol może być zalecany diabetykom. Ponadto polioli ten wykazuje działanie przeciwróżnicze, jak również może wpływać na zmniejszenie ryzyka wystąpienia ostrego zapalenia ucha środkowego u dzieci. Jednakże w piśmiennictwie brakuje prac badawczych dokumentujących przemiany ksylitolu zachodzące podczas procesów technologicznych (pieczenie, prażenie, smażenie). W opinii autorów niniejszego opracowania konieczne jest przeprowadzenie takich badań, które pozwoliłyby wyjaśnić, jakim przemianom ulegają alkohole cukrowe podczas procesów technologicznych.

Literatura

- [1] Chukwuma C.I., Islam M.S.: Effects of xylitol on carbohydrate digesting enzymes activity, intestinal glucose absorption and muscle glucose uptake: A multi-mode study. *Food Funct.*, 2015, 6, 955-962.
- [2] Cozma A.I., Sievenpiper J.L.: The role of fructose, sucrose and high-fructose corn syrup in diabetes. *Eur. Endocrinol.*, 2014, 10 (1), 51-60.
- [3] Dhingra R., Sullivan L., Jacques P.F., Wang T.J., Fox C.S., Meigs J.B., D'agostino R.B., Gaziano J.M., Vasan R.S.: Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, 2007, 116, 480-488.
- [4] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific opinion on the substantiation of health claims related to the sugar replacers xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, lactitol,

- isomalt, erythritol, D-tagatose, isomaltulose, sucralose and polydextrose and maintenance of tooth mineralisation by decreasing tooth demineralisation (ID 463, 464, 563, 618, 647, 1182, 1591, 2907, 2921, 4300), and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 617, 619, 669, 1590, 1762, 2903, 2908, 2920) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J., 2011, 9 (4), #2076.
- [5] El-Marakby A.M., Al-Sabri F.A., Mohamed S.G., Labib L.M.: Anti-cariogenic effect of five-carbon sugar. *J. Dent. Oral Health*, 2017, 3 (6), 1-5.
- [6] Farmer A.D., Ruffle J.K.: Irritable bowel syndrome. *Medicine*, 2019, 467 (6), 350-353.
- [7] Ghosh S., Sudha M.L.: A review on polyols: New frontiers for health-based bakery products. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2012, 63 (3), 372-379.
- [8] Grembecka M.: Ksylitol – rola w diecie oraz profilaktyce i terapii chorób człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2015, 3, 340-343.
- [9] Grembecka M.: Sugar alcohols-their role in the modern world of sweeteners: A review. *Eur. Food Res. Technol.*, 2015, 241, 1-14.
- [10] Hautalahti O., Renko M., Tapiainen T., Kontiokari T., Pokka T., Uhari M.: Failure of xylitol given three times a day for preventing acute otitis media. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2007, 26 (5), 423-427.
- [11] Irmak S., Canisag H., Vokoun C., Meryemoglu B.: Xylitol production from lignocellulosics: Are corn biomass residues good candidates? *Biocatal. Agricultural Biotechnol.*, 2017, 11, 220-223.
- [12] Islam M.S., Indrajit M.: Effects of xylitol on blood glucose, glucose tolerance, serum insulin and lipid profile in a type 2 diabetes model of rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 2012, 61, 57-64.
- [13] Janakiram C., Deepan Kumar C., Joseph J.: Xylitol in preventing dental caries: A systematic review and meta-analyses. *J. Nat. Sci. Biol. Med.*, 2017, 8 (1), 16-21.
- [14] Kandelman D., Gagnon G.: Clinical results after 12 months from a study of the incidence and progression of dental caries in relation to consumption of chewing-gum containing xylitol in school preventive programs. *J. Dent. Res.*, 1987, 66 (8), 1407-1411.
- [15] Kontiokari T., Uhari M., Koskela M.: Antiadhesive effects of xylitol on otopathogenic bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1998, 41, 563-565.
- [16] Kresnowati M.T.A.P., Regina D., Bella C., Wardani A.K., Wenten I.G.: Combined ultrafiltration and electrodeionization techniques for microbial xylitol purification. *Food Bioprod. Process.*, 2019, 114, 245-252.
- [17] Livesey G.: Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutr. Res. Rev.*, 2003, 16, 163-191.
- [18] Ly K.A., Riedy C.A., Milgrom P., Rothen M., Roberts M.C., Zhou L.: Xylitol gummy bear snacks: A school-based randomized clinical trial. *BMC Oral Health*, 2008, 8 (20), 1-11.
- [19] Marghalani A.A., Guinto E., Phan M., Dhar V., Tinanoff N.: Effectiveness of xylitol in reducing dental caries in children. *Pediatr. Dent.*, 2017, 39 (2), 103-110.
- [20] Marttinen A.M., Ruas-Madiedo P., Hidalgo-Cantabrana C., Saari M.A., Ihalin R.A., Söderling E.M.: Effects of xylitol on xylitol-sensitive versus xylitol-resistant *Streptococcus mutans* strains in a three-species *in vitro* biofilm. *Curr. Microbiol.*, 2012, 65, 237-243.
- [21] Mäkinen K.K.: Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: A literature review. *Int. J. Dent.*, 2010, 1-23.
- [22] Mäkinen K.K.: Sugar alcohol sweeteners as alternatives to sugar with special consideration of xylitol. *Med. Princ. Pract.*, 2011, 20, 303-320.
- [23] Milgrom P., Ly K.A., Roberts M.C., Rothen M., Mueller G., Yamaguchi D.K.: Mutans Streptococci dose response to xylitol chewing gum. *J. Dent. Res.*, 2006, 85 (2), 177-181.
- [24] Milgrom P., Ly K.A., Tut O.K., Mancl L., Roberts M.C., Briand K., Gancio M.J.: Xylitol pediatric topical oral syrup to prevent dental caries: A double-blind randomized clinical trial of efficacy. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 2009, 163 (7), 601-607.

- [25] Morais Junior W.G., Pacheco T.F., Trichez D., Almeida J.R.M., Gonçalves S.B.: Xylitol production on sugarcane biomass hydrolysate by newly identified *Candida tropicalis* JA2 strain. *Yeast*, 2019, 36, 349-361.
- [26] Mortensen A.: Sweeteners permitted in the European Union: Safety aspects. *Scand. J. Food Nutr.*, 2006, 50 (3), 104-116.
- [27] Mussatto S.I.: Application of xylitol in food formulations and benefits for health. In: D-Xylitol. Fermentative Production, Application and Commercialization. Eds. S.S. da Silva, A.K. Chandel. Springer-Verlag, Berlin 2012, pp. 309-323.
- [28] Pal S., Mondal A.K., Sahoo D.K.: Molecular strategies for enhancing microbial production of xylitol. *Process Biochem.*, 2016, 51, 809-819.
- [29] Pourmir A., Noor-Mohammadi S., Johannes T.W.: Production of xylitol by recombinant microalgae. *J. Biotechnol.*, 2013, 165, 178-183.
- [30] Rafiqul I.S.M., Mimi Sakinah A.M.: Processes for the production of xylitol – A review. *Food Rev. Int.*, 2013, 29, 127-156.
- [31] Rahman M.A., Islam M.S.: Xylitol improves pancreatic islets morphology to ameliorate type 2 diabetes in rats: A dose response study. *J. Food Sci.*, 2014, 79 (7), H1436-H1442.
- [32] Richardson A.J., McKain N., Wallace R.J.: Ammonia production by human faecal bacteria, and the enumeration, isolation and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids. *BMC Microbiol.*, 2013, 13, 1-8.
- [33] Rozporządzenie Komisji (UE) NR 1129/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 poprzez ustanowienie unijnego wykazu dodatków do żywności. *Dz. U. L 295*, ss. 1-177, z 12.11.2011.
- [34] 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 uchylecia 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. U. L 304*, ss. 18-63, z 22.11.2011.
- [35] Runnel R., Mäkinen K.K., Honkala S., Olak J., Mäkinen P.L., Nömmela R., Vahlberg T., Honkala E., Saag M.: Effect of three-year consumption of erythritol, xylitol and sorbitol candies on various plaque and salivary caries-related variables. *J. Dent.*, 2013, 41 (12), 1236-1244.
- [36] Sadowska J., Rygielska M.: Technologiczne i zdrowotne aspekty stosowania syropu wysokofruktozowego do produkcji żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 3 (94), 14-26.
- [37] Schneider A.S., Schettler A., Markowski A., Luettig B., Momma M., Seipt C., Hadem J., Wilhelmi M.: Assessment of xylitol serum levels during the course of parenteral nutrition including xylitol in intensive care patients: A case control study. *Clin. Nutr.*, 2014, 33 (3), 483-488.
- [38] Schumann D., Klose P., Lauche R., Dobos G., Langhorts J., Cramer H.: Low fermentable, oligo-, di-, mono-saccharides and polyol diet in the treatment of irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*, 2018, 45, 24-31.
- [39] Swain M.R., Krishnan C.: Improved conversion of rice straw to ethanol and xylitol by combination of moderate temperature ammonia pretreatment and sequential fermentation using *Candida tropicalis*. *Ind. Crops Prod.*, 2015, 77, 1039-1046.
- [40] Tapiainen T., Kontiokari T., Sammalkivi L., Ikähiemio I., Koskela M., Uhari M.: Effect of xylitol on growth of *Streptococcus pneumoniae* in the presence of fructose and sorbitol. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, 45 (1), 166-169.
- [41] Tapiainen T., Luotonen L., Kontiokari T., Renko M., Uhari M.: Xylitol administered only during respiratory infections failed to prevent acute otitis media. *Pediatrics*, 2002, 109 (2), 1-5.

- [42] Tapiainen T., Sormunen R., Kaijalainen T., Kontiokari T., Ikäheimo I., Uhari, M.: Ultrastructure of *Streptococcus pneumoniae* after exposure to xylitol. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004, 54 (1), 225-228.
- [43] Tinanoff N.: Dental caries. In: *Pediatric Dentistry: Infancy through Adolescence*. 6th ed. Eds. A.J. Nowak, J.R. Christensen, T.R. Mabry, J.A. Townsend, M.H. Wells. Elsevier-Saunders, Philadelphia 2019, pp. 169-179.
- [44] Uhari M., Kontiokari T., Koskela M., Niemelä M.: Xylitol chewing gum in prevention of acute otitis media: Double blind randomised trial. *BMJ Clinical Research*, 1996, 313, 1180-1184.
- [45] Uhari M., Kontiokari T., Niemelä M.: A novel use of xylitol sugar in preventing acute otitis media. *Pediatrics*, 1998, 102 (4), 879-884.
- [46] Ur-Rehman S., Mushtaq Z., Zahoor T., Jamil M., Murtaza M.A.: Xylitol: A review on bioproduction, application, health benefits, and related safety issues. *Crit. Rev. Food Sci.*, 2015, 55, 1514-1528.
- [47] Vernacchio L., Corwin M.J., Vezina R.M., Pelton S.I., Feldman H.A., Coyne-Beasley T., Mitchell A.A.: Xylitol syrup for the prevention of acute otitis media. *Pediatrics*, 2014, 133 (2), 289-295.
- [48] Washüttl J., Riederer P., Bancher E.: A qualitative and quantitative study of sugar-alcohols in several foods. *J. Food Sci.*, 1973, 38, 1262-1263.
- [49] Wölnerhanssen B.K., Cajacob L., Keller N., Doody A., Rehfeld J.F., Drewe J., Peterli R., Berlinger C., Meyer-Gerspach A.C.: Gut hormone secretion, gastric emptying, and glycemic responses to erythritol and xylitol in lean and obese subjects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2016, 310, E1053-E1061.
- [50] Wölnerhanssen B.K., Meyer-Gerspach A.C., Beglinger C., Islam M.S.: Metabolic effects of the natural sweeteners xylitol and erythritol: A comprehensive review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2019, 1-13.
- [51] Zacharis C.: Xylitol. In: *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. 2nd ed. Eds. K. O'Donnell, M.W. Kearsley. Wiley-Blackwell, West Sussex 2012, pp. 347-382.

XYLITOL – TECHNOLOGICAL AND NUTRITIONAL ASPECTS

S u m m a r y

The study systematizes the current knowledge on the characteristics of xylitol as an alternative to commonly used high-fructose-glucose syrups and sucrose in food products.

Xylitol is a five-carbon sugar alcohol, which is naturally present mainly in plant-based products. On an industrial scale it is obtained in the process of xylose hydrogenation. It is the sweetest of polyols, with relative sweetness comparable to sucrose. Xylitol (E 967) has been approved in the European Union as a food additive at *quantum satis* in most food applications. Food safety authorities such as: JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives); SCF (Scientific Committee on Food) and FDA (Food and Drug Administration) have considered xylitol as a safe sweetener.

Xylitol can be used not only for food products sweetening, but also because of its numerous health benefits. Only 25 ÷ 50 % of xylitol is absorbed in the small intestine, and xylitol metabolism occurs with a small contribution of insulin and leads to a slight blood glucose level increase. Therefore, it is recommended for diabetics as well as for obese people. Xylitol is also appreciated because of its well-documented anticaries properties (it is not a substrate for energy processes of cariogenic bacteria, has a positive effect on the enamel remineralisation and reduces the adherence of pathogens to the tooth

surface). Xylitol may also reduce the risk of acute otitis media in children when administered in a suitable dose.

Key words: xylitol, physico-chemical properties, food applications, glycaemic index, health properties 

MARCELINA KARBOWIAK, DOROTA ZIELIŃSKA

POSTBIOTYKI – WŁAŚCIWOŚCI, ZASTOSOWANIE I WPLYW NA ZDROWIE CZŁOWIEKA

Streszczenie

Zaspokajanie głodu poprzez spożywanie żywności jest podstawową potrzebą fizjologiczną człowieka niezbędną do przetrwania. Mikrobiom zasiedlający przewód pokarmowy obejmuje m.in bakterie, a część z nich określana mianem probiotycznych wywiera pozytywny wpływ na zdrowie człowieka. Niektóre z korzystnych właściwości probiotyków można przypisać charakterystycznym metabolitom mikrobiomu, nazywanym postbiotykami, czyli składowym ścian komórkowych określonych szczepów probiotycznych lub też lizatom uwalnianym w wyniku rozpadu komórek bakteryjnych. Sposób i efekty działania postbiotyków na zdrowie człowieka nie zostały jeszcze w pełni poznane. Niemniej jednak pojawia się coraz więcej badań, które wskazują na ich działanie ograniczające stan zapalny i stres oksydacyjny, likwidujące obecność szkodliwych patogenów czy stymulujące układ odpornościowy człowieka. Ponadto postbiotyki mogą znaleźć zastosowanie w technologii żywności jako środki konserwujące, poprawiające teksturę czy dodatki funkcjonalne. Niewątpliwą zaletą stosowania postbiotyków jest ich bezpieczeństwo, łatwość dawkowania, a także stabilność podczas przechowywania. W niniejszym opracowaniu omówiono definicje postbiotyków, mechanizmy ich działania i charakterystykę substancji postbiotycznych jako składników żywności oraz ich wpływ na funkcje organizmu człowieka. Na podstawie pogłębionej analizy literatury przedmiotu należy zauważyć, że pomimo wielu obiecujących danych wydaje się, że konieczne są dalsze badania w celu identyfikacji i zrozumienia mechanizmów działania postbiotyków, a także optymalizacji ich skuteczności. Przede wszystkim należy potwierdzić skuteczność oddziaływania postbiotyków na poprawę zdrowia człowieka.

Słowa kluczowe: postbiotyki, właściwości, mechanizmy działania, żywność

Wprowadzenie

Mikrobiom jelitowy liczy ok. 100 bilionów bakterii z 1000 różnych gatunków i stanowi jeden z najbogatszych ekosystemów obecnych na Ziemi. Wykazuje on wielokierunkowe właściwości prozdrowotne wynikające m.in. z biosyntezy korzystnych

Mgr M. Karbowiak, dr hab. inż. D. Zielińska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: dorota_zielinska@sggw.edu.pl

dla zdrowia metabolitów oraz z bezpośredniego wpływu na układ odpornościowy. Wiele różnych czynników, takich jak: mikrobiota matki, sposób urodzenia, sposób żywienia w okresie niemowlęcym, a następnie zakażenia drobnoustrojami, leczenie antybiotykami, dieta (żywność wysoko przetworzona, o niskiej zawartości błonnika), przewlekła biegunka czy stres wpływają znacząco na zdrowie jelit. Zaburzony skład mikrobiomu jelitowego obserwowany w licznych stanach patologicznych to dysbioza. Od dawna dysbiozę jelitową łączy się m.in. z chorobą Leśniowskiego-Crohna czy rakiem jelita grubego [11]. Powrót do stanu eubiozy, w którym bakterie znajdują się w stanie równowagi, możliwy jest poprzez zastosowanie probiotyków, prebiotyków, synbiotyków lub postbiotyków w postaci farmaceutyków, suplementów diety bądź żywności.

Żywność, która wpływa na poprawę zdrowia ludzi, czy leczy choroby, to nowoczesna koncepcja, która jest przedmiotem zainteresowania badaczy. Obserwuje się duży popyt na żywność probiotyczną zawierającą żywą mikrobiotę jelitową wpływającą korzystnie na różne funkcje organizmu człowieka, w tym na zwiększenie odporności poprzez regulację funkcjonowania przewodu pokarmowego i na działanie przeciwnowotworowe. Jak podają Cicens i wsp. [9], część korzystnych właściwości probiotyków wynika z substancji wydzielanych przez nie, produktów ich metabolizmu czy substancji uwalnianych w wyniku lizy ich komórek. Do określania tych substancji stosuje się terminy takie, jak: postbiotyki, metabiotyki, metabolity bakteryjne, bezkomórkowe supernatanty, metaboliczne resztki aktywności probiotycznej, a także nieżywotne probiotyki, inaktywowane probiotyki, czy probiotyki widmo [2].

Celem niniejszego opracowania była charakterystyka postbiotyków, ich głównych właściwości, a także przedyskutowanie możliwości zastosowania postbiotyków jako dodatków funkcjonalnych do żywności.

Historia i definicja postbiotyków

Pojęcia probiotyków oraz prebiotyków są dobrze znane i powszechnie stosowane. Natomiast pojęcie „postbiotyki” jest stosunkowo nowym terminem, który pojawia się w piśmiennictwie od ok. 10 lat. Pierwsze terminy „paraprobiotyki” i „nieżywotne komórki drobnoustrojów” oraz ich synonimy zaczęły pojawić się w literaturze już po 1986 roku [52]. Z kolei jednym z najwcześniejszych przykładów opisanego w literaturze potencjału postbiotycznego były prace z 1996 oraz z 1999 roku, w których Sütas i wsp. [42] oraz Pessi i wsp. [33] wykazali, że homogenaty bakterii probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) hamowały proliferację limfocytów. Tsilingiri i Rescigno [47] definiują postbiotyki jako „każdy czynnik wynikający z aktywności metabolicznej probiotyku lub dowolnej uwolnionej cząsteczki zdolnej do przekazania gospodarzowi korzystnych efektów w sposób bezpośredni lub pośredni”. Collado i wsp. [10] proponują postbiotykami nazywać „związki wytwarzane przez mikroorga-

nizmy, uwalniane ze składników żywności lub składników drobnoustrojów, w tym nieżywotnych komórek, które podawane w odpowiednich ilościach promują zdrowie i dobre samopoczucie gospodarza”. Istnieje wiele definicji postbiotyków, jednak jak dotąd żadna nie uzyskała międzynarodowej akceptacji [2]. W praktyce termin „postbiotyk” został wprowadzony w celu odróżnienia żywych komórek bakterii (probiotyków) od produktu bioaktywnego, zawierającego martwe mikroorganizmy i ich metabolity, takie jak rozpuszczalne czynniki wydzielane przez żywe bakterie lub uwalniane po lizie bakteryjnej szczepów probiotycznych, w tym enzymy, peptydy, kwasy teichowe, białka powierzchni komórek, polisacharydy czy kwasy organiczne [2]. W technologii żywności, a także technologii medycznej, fermentacja jest procesem, który wywołuje powstawanie postbiotyków [45]. W przeważającej liczbie przypadków postbiotyki identyfikuje się jako metabolity szczepów probiotycznych, takich jak: *Bifidobacterium breve*, *B. lactis*, *B. infantis*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus*, a także *Escherichia coli* i *Faecalibacterium prausnitzii* [47]. Postbiotyki wykazują zbliżone funkcje do probiotyków, a efekt ich działania może być podobny. Postbiotyki mają szereg zalet, które dają im przewagę w stosowaniu, m.in. mają określony skład chemiczny, można ustalić parametry bezpiecznej dawki oraz wykazują dłuższy okres trwałości (nawet do 5 lat, gdy postbiotyk jest stosowany jako składnik żywności i napojów lub jako suplementy diety) [2]. Poza tym postbiotyki są niepatogenne i nietoksyczne oraz odporne na hydrolizę przez enzymy układu pokarmowego ssaków [20]. Zawierają także cząsteczki sygnałowe, które stymulują układ immunologiczny, wykazują działanie przeciwzapalne, immunomodulujące, zapobiegające otyłości oraz nadciśnieniu tętniczemu, antyproliferacyjne, przeciwtleniające i hipocholesterolemiczne [2].

Rodzaje postbiotyków

Badania nad postbiotykami koncentrują się głównie nad możliwością ich wyodrębnienia i podania, aby uzyskać pozytywny efekt działania w organizmie człowieka. Zazwyczaj wytwarzanie postbiotyków obejmuje techniki niszczenia błon komórkowych i uwalniania ich zawartości, w wyniku działania obróbki cieplnej i enzymatycznej, ekstrakcji rozpuszczalnikiem i sonikacji (zastosowania ultradźwięków). Etapy postprodukcji obejmują dodatkową ekstrakcję i wirowanie, dializę, liofilizację i chromatografię kolumnową [2].

Podziału postbiotyków można dokonać ze względu na zawarte w nich substancje, do których należą te o charakterze lipidowym, białkowym, węglowodanowym, witaminowym/koenzymatycznym, pochodne kwasów organicznych i związki bardziej kompleksowe, takie jak muropeptydy czy kwas lipotejchojowy [47]. Inny podział obejmuje postbiotyki powstające zewnątrz- i wewnątrzkomórkowo. Składniki ściany komórkowej obejmują takie związki, jak pozakomórkowe substancje polimerowe i peptydoglikany. Z kolei głównymi metabolitami wewnątrzkomórkowymi są kwasy

organiczne, takie jak: kwas mlekowy i kwas octowy, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA), do których należą kwasy: masłowy, octowy i propionowy, bakteriocyny, takie jak acidofilina, bifidyna, reuteryna czy peptydy, w tym białka p40, p75 i laktocepina [2]. Rzadziej stosuje się podział postbiotyków na podstawie ich funkcji fizjologicznych (bezpośrednio oddziałujących na komórki nabłonkowe jelita), czyli ze względu na ich oczekiwane efekty działania, do których zalicza się m.in. działanie stymulujące układ odpornościowy, przeciwzapalne i przeciwbakteryjne. Wspomniane efekty miejscowe wykazują komponenty ścian komórkowych. Z kolei za efekty systemowe odpowiedzialne są metabolity wewnątrzkomórkowe, które wykazują działanie

Tabela 1. Podział postbiotyków ze względu na skład chemiczny
Table 1. Dividing postbiotics according to their chemical composition

Skład chemiczny Chemical composition	Metabolity bakteryjne Bacterial metabolites	Komponenty bakteryjne Bacterial components
Enzymy Enzymes	pozakomórkowa peroksydaza glutationowa, dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza NADH eGPx, superoxide dismutase, NADH-peroxidase	–
Lipidy Lipids	krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (masłowy, octowy, propionowy), plazmalogeny SCFA (butyrate, acetate, propionate), plasmalogen	–
Białka Proteins	laktocepina, białko p40, białko p75, bakteriocyny / lactocepina, p40 molecule, p75 molecule, bacteriocin	peptydoglikany peptidoglycans
Sacharydy Saccharides	egzopolisacharydy exopolysaccharides	galaktopolisacharydy, kwas teichojowy / galactose-rich polysaccharides, teichoic acids
Witaminy/koenzymy Vitamins/co-factors	witaminy z grupy B, witamina K B-group vitamins, vitamin K	–
Kwasy organiczne Organic acids	kwas 3-fenylmlekowy, octowy, etanol, izopropanol, izobutanol 3-phenyllactic acid, acetic, ethanol, 1-propanol, isobutanol	–
Cząsteczki kompleksowe Complexes molecules	–	muropeptydy, kwasy lipoteichoiczne muropeptides, lipoteichoic acids
Inne Others	nadtlenek wodoru hydrogen peroxide	pozakomórkowe substancje polimerowe / extracellular polymeric substances

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie [2, 45, 47] / the author's own study based on [2, 45, 47]

zapobiegające nadciśnieniu tętniczemu, obniżające poziom cholesterolu czy bezpośrednie działania przeciwnowotworowe obejmujące działanie proapoptyczne, antypro-

liferacyjne, antyangiogenne i przeciwutleniające [39]. W tab. 1. zebrano informacje dotyczące podziału postbiotyków ze względu na skład chemiczny.

Funkcje i mechanizmy działania postbiotyków

Można przyjąć, że postbiotyki stymulują mikrobiom jelitowy i wspierają funkcje immunologiczne jelit. Bioaktywne składniki pochodzące z probiotyków, czyli postbiotyki, odgrywają podobną rolę ochronną w funkcjonowaniu bariery jelitowej jak żywe probiotyki. Zwiększają ekspresję genu odpowiedzialnego za produkcję mucyny jelitowej (MUC2), chroniąc barierę jelitową przed urazami wywoływanymi przez lipopolisacharyd (LPS) lub czynnik martwicy nowotworów (TNF- α) [16].

Postbiotyki mogą wpływać na procesy epigenetyczne, takie jak: metylacja DNA, fosforylacja, biotynylacja, acetylacja histonów i interferencja RNA. Dzięki temu mogą kontrolować epigenetyczną odpowiedź komórek gospodarza [32]. Wymienione procesy wpływają z kolei na immunomodulację, wykluczenie konkurencyjne i regulację funkcji bariery komórkowej nabłonka, co pozytywnie wpływa na zapobieganie różnym chorobom, w tym nowotworom, chorobie Leśniowskiego-Crohna, zaburzeniom autoimmunologicznym i chorobom wynikającym ze współczesnego stylu życia [39].

Związki postbiotyczne mogą także odgrywać rolę w hamowaniu namnażania się patogenów. Składnikami postbiotycznymi odpowiedzialnymi za hamowanie patogenu są bakteriocyny i kwasy organiczne [19]. Bakteriocyny to syntetyzowane peptydy przeciwdrobnoustrojowe wykazujące właściwości bakteriostatyczne lub bakteriobójcze. Kareem i wsp. [19], Ołdak i wsp. [28] oraz Mariam i wsp. [22] dowiedli, że postbiotyki pozyskane z różnych gatunków *Lactobacillus* hamują zarówno patogenne bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne (m.in. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, czy *Escherichia coli*). Kang i wsp. [18] wykazali, że postbiotyki pochodzące ze szczepu *L. rhamnosus* GG mają pozytywny wpływ na terapię przeciwko *Helicobacter pylori*. Z kolei Cicenia i wsp. [9] zaobserwowali w badaniach *in vitro* także działanie ochronne supernatantu z hodowli *L. rhamnosus* GG przed uszkodzeniem komórek mięśniowych jelita grubego

Canonici i wsp. [6] stwierdzili, że supernatant otrzymany z hodowli *Saccharomyces boulardii* wzmacnia funkcję barierową i poprawia angiogenezę *in vitro* i *in vivo* w komórkach nabłonkowych poprzez aktywację receptorów kolagenu integryny $\alpha 2\beta 1$, przez co chroni przed zaburzeniami integralności jelitowej. Wzmacnia funkcje odpornościowe poprzez poprawę zdolności do zwalczania infekcji, np. zwiększając odpowiedź przeciwciał na patogeny oraz wpływając na funkcjonowanie bariery jelitowej. Wymienieni autorzy zasugerowali także, że supernatant może wspierać proces regeneracji nabłonka jelit.

Funkcje postbiotyków wraz z wybranymi przykładowymi badaniami potwierdzającymi ich działanie przedstawiono w tab. 2.

Mechanizmy działania postbiotyków nie zostały jeszcze w pełni poznane. Często nie do końca możliwe jest wskazanie, czy efekt ochronny można przypisać probiotykom, czy już postbiotykom, nawet jeśli mechanizmy działania mogą się różnić [27]. Dla przykładu hipocholesterolemiczne mechanizmy probiotycznych bakterii działają na zasadzie hamowania jelitowej adsorpcji cholesterolu i tłumienia ponownego wchłaniania kwasu żółciowego [27]. Z drugiej strony Nakamura i wsp. [24] donoszą, że postbiotyki stymulują receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów, które powodują β -oksydację kwasów tłuszczowych uwolnionych z triacylogliceroli. Chi i wsp. [8] stwierdzili, że postbiotyki aktywują białko NOD1, które indukuje autonomiczną komórkową lipolizę w adipocytach, dzięki czemu postbiotykom można przypisać korzystne działanie na metabolizm lipidowy człowieka.

Postbiotyki wykazują również działanie antyproliferacyjne przeciwko komórkom nowotworowym okrężnicy, najprawdopodobniej związane z aktywacją proapoptotycznego szlaku śmierci komórki poprzez regulację odpowiedzi immunologicznej [44]. Escamilla i wsp. [14] udowodnili, że postbiotyki uzyskane ze szczepów *Lactobacillus* mogą zmniejszać aktywność metaloproteinazy-9, która odpowiada za hamowanie inwazji raka okrężnicy. W celu wyjaśnienia, jaki związek odpowiedzialny był za ten efekt, autorzy frakcjonowali supernatant bezkomórkowy na podstawie masy cząsteczkowej. Stwierdzili, że aktywna frakcja hamująca odpowiadała związkom o masie $> 100 \cdot 10^3$ Da i $(50 \div 100) \cdot 10^3$ Da, co wskazuje, że związkiem hamującym może być makrocząsteczka, taka jak białko, kwas nukleinowy lub polisacharyd. Już na początku XXI wieku Saide i Gilliland [37] wykazali, że bezkomórkowe ekstrakty z bakterii kwasu mlekowego mogą przejawiać znacznie większą zdolność przeciwutleniającą niż hodowle całych komórek i zasugerowali, że przeciwutleniające działanie można przypisać zarówno enzymatycznym, jak i nieenzymatycznym wewnątrzkomórkowym przeciwutleniaczom. Ponadto *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis* i *B. longum* są zdolne do degradacji nadtlenu wodoru poprzez produkcję peroksydazy NADH. Peroksydaza glutationowa i reduktaza glutationowa to dwa ważne enzymy przeciwutleniające, które chronią komórki przed uszkodzeniem oksydacyjnym poprzez wychwytywanie reaktywnych form tlenu (ROS). Jednakże Shimamura i wsp. [41] sugerują, że także inne komponenty bakteryjne mogą być zaangażowane w działanie przeciwutleniające. Aktywność przeciwutleniająca takiego nieenzymatycznego postbiotyku może być spowodowana działaniem ROS i zjawiskiem oczyszczania przez reaktywne formy azotu [3].

Tabela 2. Przykłady badań *in vitro* i *in vivo* postbiotyków, ich bioaktywność i efekty działania
 Table 2. Examples of *in vitro* and *in vivo* studies on postbiotics, their bioactivity and effects

Bioaktywność Bioactivity	Postbiotyki / Postbiotic	Efekt badania / Research effect	Literatura Reference
Działanie przeciwutleniające Antioxidant capacity	CFS z 4 szczepów <i>Bifidobacterium</i> CFS of 4 strains of <i>Bifidobacterium</i>	Zdolność degradacji nadlenku wodoru poprzez produkcję peroksydazy NADH / Capability of degrading hydrogen peroxide by producing NADH peroxidase	[41]
	CFS z 4 szczepów <i>Lactobacillus</i> CFS of 4 strains of <i>Lactobacillus</i>	Zdolność do ochrony β-fikoerytryny przed utlenianiem rodnikowym Capability to protect β-phycoerythrin from radicaloxidation	[37]
	IC z 7 szczepów <i>Bifidobacterium</i> , 11 <i>Lactobacillus</i> , 6 <i>Lactococcus</i> i 10 <i>Strep. thermophilus</i> / IC of 7 <i>Bifidobacterium</i> , 11 <i>Lactobacillus</i> , 6 <i>Lactococcus</i> and 10 <i>Strep. thermophilus</i> strains	Ograniczenie nadmiernych ilości reaktywnych rodników Limitation of excessive amounts of reactive radicals	[3]
	CFS z <i>Pediococcus acidilactici</i> GMB7330 CFS of <i>Pediococcus acidilactici</i> GMB7330	Zdolność do hamowania wzrostu <i>H. pylori</i> Capability to inhibit the growth of <i>H. pylori</i>	[18]
Działanie przeciwbakteryjne Antimicrobial capacity	CFS z LAB i różnych gatunków drożdży CFS of LAB and yeast species	Działanie przeciwbakteryjne względem patogenów Antibacterial activity against pathogens	[2, 22]
	CFS z 6 szczepów <i>L. plantarum</i> CFS of 6 strains of <i>L. plantarum</i>	Hamowanie proliferacji bakterii chorobotwórczych Inhibition of proliferation of pathogenic bacteria	[19]
Działanie przeciwnowotworowe Anti-cancer capacity	FC z <i>L. casei</i> ATCC 393 FC of <i>L. casei</i> ATCC 393	Działanie hamujące rozwój nowotworów, przeciwproliferacyjne i proapoptotyczne / Tumour-inhibitory, anti-proliferative and pro-apoptotic effects	[44]
	CFS z <i>Lactobacillus casei</i> i <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG / CFS of <i>Lactobacillus casei</i> and <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Zmniejszenie aktywności metaloproteinazy 9 hamującej inwazję raka okrężnicy / Decreasion metalloproteinase-9 activity that inhibits colon cancer invasion	[14]

Działanie przeciwotyłości Anti-obesogenic capacity	Peptydoglikan Peptidoglycan	Aktywacja białka NOD1, które indukuje autonomiczną komórkową lipolizę w adipocytach / Activation of the NOD1 protein, which induces autonomous cellular lipolysis in adipocytes	[8]
	FC z <i>L. amylovorus</i> CP1563 FC of <i>L. amylovorus</i> CP1563	Zapobieganie i leczenie dyslipidemii Prevention and treatment of dyslipidemia	[24]
	FC z <i>Lactobacillus gasseri</i> SBT2055 FC of <i>Lactobacillus gasseri</i> SBT2055	Hamowanie jelitowej adsorpcji cholesterolu i tłumienie ponownego wchłaniania kwasów żółciowych / Inhibition of intestinal cholesterol adsorption and suppression of bile acid re-absorption	[27]
Działanie immunomodulacyjne Immunomodulation capacity	CFS z <i>Saccharomyces boulardii</i> CFS of <i>Saccharomyces boulardii</i>	Poprawa zdolności migracji komórek nabłonka poprzez aktywację receptorów kolagenu integryny $\alpha 2\beta 1$ / Improvement of epithelial cells migration via activation of $\alpha 2\beta 1$ integrin collagen receptors	[6]
	CFS z <i>L. rhamnosus</i> GG CFS of <i>L. rhamnosus</i> GG	Ochrona ludzkich komórek mięśni gładkich okrężnicy przed uszkodzeniami miogennymi wywołanymi przez lipopolisacharydy (LPS) / Protection of human colonic smooth muscle cells (HSMCs) against lipopolysaccharide (LPS) induced myogenic damage	[9]
	CFS z <i>L. rhamnosus</i> GG CFS of <i>L. rhamnosus</i> GG	Działanie ochronne na funkcję bariery jelitowej u myszy Protective effect on intestinal barrier function in mice	[16]

Objaśnienia / Explanatory notes:

CFS – bezkomórkowy supernatant / cell-free supernatant, FC – fragmenty komórek / fragmented cells, IC – wewnątrzkomórkowa zawartość / intracellular content.

Wszystkie powyższe właściwości wskazują, że postbiotyki mogą przyczyniać się do poprawy stanu zdrowia organizmu poprzez zapewnienie specyficznych efektów fizjologicznych, chociaż dokładne mechanizmy pozostają wciąż do wyjaśnienia [2].

Postbiotyki jako składniki żywności

Wiedza na temat żywności funkcjonalnej przyczyniła się do opracowania nowej generacji produktów wywołujących korzystne efekty zdrowotne, w tym produktów zawierających probiotyki. Pewną niedogodnością związaną ze stosowaniem probiotyków jest możliwość występowania genów oporności na antybiotyki w przypadku niektórych szczepów, co w konsekwencji może prowadzić do transferu genów oporności na antybiotyki do bakterii chorobotwórczych [17]. Kolejny główny problem związany z preparatami probiotycznymi (tj. farmaceutycznymi i handlowymi produktami żywnościowymi) to utrzymanie żywotności bakterii podczas wytwarzania i przechowywania produktu. Na żywotność organizmu probiotycznego w czasie przechowywania mogą wpływać różne zmienne, jak: interakcje z innymi obecnymi gatunkami drobnoustrojów, końcowa kwasowość produktu, aktywność wody, temperatura, dostępność składników odżywczych, stymulatory wzrostu i inhibitory, poziom inokulacji, czas fermentacji, tlen i procesy (liofilizacja, suszenie rozpyłowe, zamrażanie) [45]. Postbiotyki są bardziej stabilne niż żywe bakterie, z których pochodzą [49]. Już w 2004 roku Phister i wsp. [34] donosili, że peptydy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, a mianowicie bakilizyna i chlorotetaina, wyprodukowane przez szczep *Bacillus* sp. CS93 są rozpuszczalne w wodzie i aktywne w szerokim zakresie pH, co może wpłynąć na ich zastosowanie w szerokiej gamie produktów spożywczych.

Ważną zaletą postbiotyków jest ich korzystny profil bezpieczeństwa. Można je stosować w kontrolowany i znormalizowany sposób, podczas gdy stosowanie żywych bakterii uzależnione jest od liczby i aktywności metabolicznej danego szczepu [40]. Nierzadko postbiotyki wykorzystuje się także jako dodatki do żywności, ponieważ zwiększają żywotność endogennych szczepów probiotycznych w organizmie człowieka. Taki proces jest znacznie bezpieczniejszy niż dodawanie do żywności szczepów probiotycznych, które następnie oddziałują na ekosystem mikrobiologiczny jelit [15]. Ponadto w przypadku postbiotyków możliwe jest również znacznie lepsze kontrolowanie ilości podawanych substancji oraz składu preparatów. Tak więc wybrane postbiotyki mogą stać się częścią bakteryjnej strategii biologicznej w leczeniu wielu chorób i wspomaganiu zdrowia człowieka, jednak dużym wyzwaniem jest wdrożenie wiedzy naukowej do sfery przemysłu [2].

Obecnie wiele postbiotyków znajduje zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Przykładem jest bezbiałkowy filtrat uzyskany z hodowli *E. coli*, który zawiera aminokwasy, peptydy, polisacharydy i kwasy tłuszczowe. Działa on hamująco na rozwój zarówno wrażliwych na antybiotyki, jak i opornych na nie pałeczek *Salmonella*.

Z kolei inny pozbawiony bakterii produkt zawierający produkty metabolizmu (takie jak: krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, kwas mlekowy i inne niezidentyfikowane metabolity) z *E. coli* DSM 4087, *Streptococcus faecalis* DSM 4086, *L. acidophilus* DSM 414 i *L. helveticus* DS 4183 okazał się skuteczny w leczeniu dysbakteriozy jelitowej pacjentów z przewlekłym zapaleniem żołądka [29] oraz w zmniejszaniu częstości i nasilenia biegunki związanej z radioterapią [43]. Jeszcze inny produkt wyizolowany ze zmikronizowanych lizatów ścian komórkowych następujących gatunków bakterii: *L. rhamnosus*, *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *B. infantis*, *B. longum*, *S. thermophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* DDS-1 i *L. sporogenes* wykazał działanie polegające na zmniejszeniu nasilenia dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego u dzieci z autyzmem [53].

Wiele produktów żywnościowych jest naturalnie bogatych w postbiotyki lub ich prekursorzy (np. jogurt, kefir, kiszone warzywa czy kombucha). W niektórych przypadkach postbiotyki są celowo dodawane do żywności zamiast rozważania ich produkcji *in situ* przez bakterie probiotyczne. W tab. 3. przedstawiono przykłady zastosowania postbiotyków w technologii żywności.

Do korzystnych zastosowań postbiotyków w technologii żywności zalicza się m.in. działanie konserwujące bakteriocyn i kwasów organicznych stosowanych w różnej postaci. Na przykład zaobserwowano, że bezkomórkowy supernatant pozyskany z *L. plantarum* YML007 wykazuje właściwości biokonserwujące ziarna soi [35]. W przetwórstwie mięsnym wykorzystywane są głównie bakteriocyny, takie jak: nizyna, reuteryna, laktocyna czy sakacyna. Podstawowy kierunek ich wykorzystania to hamowanie rozwoju *L. monocytogenes* [51, 36], np. supernatant pozyskany z *Lactobacillus sakei* NRRL B-1917 wpłynął na ograniczenie wzrostu *L. monocytogenes* w wołowinie [12]. W innym badaniu pediocyna pozyskana z *Pediococcus acidilactici* PA-2 spowodowała zwiększenie okresu trwałości suchych kiełbas, dzięki redukcji liczby bakterii *E. coli* O157: H7 i całkowitej eliminacji *L. monocytogenes* [21]. Również bakteriocyny wyizolowane z *L. plantarum* SC01 znacząco zahamowały wzrost bakterii chorobotwórczych w mięsie wieprzowym [46]. Jedną z największych zalet stosowania bakteriocyn jest ich oporność na wysoką temperaturę, dzięki czemu można je dodawać do żywności, która będzie podgrzewana lub gotowana [50]. Jak dotąd większość z tych rozwiązań nie została skomercjalizowana. Jedynym postbiotykiem zatwierdzonym do stosowania jako środek konserwujący żywność jest wspomniana już nizyna – lantybiotyk wytwarzany przez specyficzny szczep *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Przykładami produktów spożywczych zawierających nizynę są m.in. zupy w puszkach, lód do przechowywania świeżych ryb, żywność dla niemowląt, wypieki piekarnicze, majonez i produkty mleczne, zwłaszcza sery [7]. Nizyna ma także właściwości zapobiegające rozwojowi grzybów strzępkowych [25]. Przede wszystkim działa hamująco na różne

rodzaje bakterii, zarówno należące do bakterii kwasu mlekowego, jak i do typowych patogenów żywności, w tym: *Salmonella*, *Listeria* lub *Clostridium* [23, 30].

Tabela 3. Przykłady zastosowania wybranych postbiotyków w technologii żywności
Table 3. Examples of application of selected postbiotics in food technology

Produkt / Product		Postbiotyk / Postbiotics	Literatura Reference
Mięso i produkty mięsne Meat and meat products	Sucha kiełbasa Dry sausage	Pediocyna z <i>Pediococcus acidilactici</i> PA-2 Pediocin of <i>Pediococcus acidilactici</i> PA-2	[21]
	Świeże mięso wołowe Fresh beef meat	CFS z <i>Lactobacillus sakei</i> NRRLB-1917 CFS of <i>Lactobacillus sakei</i> NRRLB-1917	[12]
	Gotowe do spożycia produkty mięsne (np. hot dogi) Ready-to-eat meat products (i.e., hot dogs)	CFS z <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Enterococcus faecium</i> / CFS of <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	[50]
	Mięso wieprzowe Pork meat	Bakteriocyna z <i>Lactobacillus plantarum</i> SC01 Bacteriocin of <i>Lactobacillus plantarum</i> SC01	[46]
Mleko i produkty mleczne Milk and milk products	Świeży ser Fresh cheese	Enterocyna z <i>Enterococcus faecalis</i> L3B1K3 Enterocin of <i>Enterococcus faecalis</i> L3B1K3	[36]
		Nizyna z <i>Lactococcus lactis</i> Nizin of <i>Lactococcus lactis</i>	[23]
	Sery o obniżonej zawartości tłuszczu / Low-fat cheeses	EPS z LAB EPS of LAB	[5]
	Budyń mleczny Milk pudding	Nizyna z <i>Lactococcus lactis</i> Nizin of <i>Lactococcus lactis</i>	[30]
Jogurt Yoghurt	EPS z <i>Lactobacillus fermentum</i> Lf2 I <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> IN L1 EPS of <i>Lactobacillus fermentum</i> Lf2 I <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> IN L1	[1]	
Produkty pochodzenia roślinnego Products of plant-origin	Chleb pełnoziarnisty Whole wheat bread	CFS z <i>Lactobacillus reuteri</i> L-M15 i <i>Lactobacillus salivarius</i> L-ID15 CFS of <i>Lactobacillus reuteri</i> L-M15 and <i>Lactobacillus salivarius</i> L-ID15	[31]
	Ziarna soi Soy beans	CFS z <i>Lactobacillus plantarum</i> YML007 CFS of <i>Lactobacillus plantarum</i> YML007	[35]
	Żywność płynna (żywność dla niemowląt, soki) Liquid foods (baby food, juices)	Kwasy organiczne: mlekowy, jabłkowy, mrówkowy, fosforowy, propionowy, cytrynowy, winowy i octowy z LAB / Organic acids: lactic, malic, formic, phosphoric, propionic, citric, tartaric and acetic from LAB culture	[4]
	Żywność funkcjonalna Functional foods	EPS z <i>Lactobacillus plantarum</i> BR2 EPS of <i>Lactobacillus plantarum</i> BR2	[38]

Postbiotyki to także kwasy organiczne, szczególnie kwas mlekowy produkowany przez bakterie probiotyczne, który wykazuje silne działanie konserwujące. Obniżone przez kwasy organiczne pH środowiska wpływa hamująco na rozwój niepożądanych

drobnoustrojów w produktach spożywczych [4, 26]. To działanie znalazło zastosowanie w przetwórstwie m.in. owocowo-warzywnym, dzięki nadaniu kiszonkom charakterystycznego smaku, a także zatrzymaniu rozwoju drobnoustrojów patogennych w jelitach, przy jednoczesnej stymulacji wzrostu drobnoustrojów pożądanых [48].

Inne specyficzne postbiotyki – egzopolisacharydy (EPS) zawierające rzadko występujące cukry – zostały zbadane pod kątem nowych zastosowań w przemyśle spożywczym ze względu na ich znaczącą rolę w kształtowaniu cech fizykochemicznych (lepkość, stabilizacja, wiązanie wody) i sensorycznych (smak, zapach) w końcowych produktach spożywczych. Za wyjątkiem dekstranu, EPS pochodzące z bakterii kwasu mlekowego nie były dotychczas komercyjnie wykorzystywane jako dodatki do żywności ze względu na ich stosunkowo niską wydajność [21]. Niemniej jednak Sasikumar i wsp. [38] wykazali, że EPS pozyskany ze szczepu *L. plantarum* RB2 przejawia właściwości przeciwutleniające, zapobiegające cukrzycy czy obniżające poziom cholesterolu, a poza tym jest nietoksyczny dla komórek organizmu. Ale i wsp. [1] stwierdzili z kolei, że EPS wyizolowany ze szczepu *L. fermentum* Lf2 może być stosowany jako składnik żywności funkcjonalnej ze względu na jego korzystne probiotyczne działanie na organizm człowieka. Pod względem technologicznym obecność EPS wpływa na wiele właściwości produktów mlecznych, w tym jogurtów, kefirów, śmietany oraz serów, wykazując zdolność do zagęszczania, emulgacji i żelowania, a więc użycie EPS może być alternatywą dla stosowania środków zagęszczających. Z kolei duża zdolność zatrzymywania wody przez EPS ma pozytywny wpływ na zwiększenie lepkości i poprawę tekstury serów, zwłaszcza tych o obniżonej zawartości tłuszczu [5].

Zastosowanie wybranych bakterii kwasu mlekowego jako starterów piekarniczych do wypieku chleba stanowi alternatywę dla tradycyjnego chleba pszennego ze względu na wytwarzanie przez nie znacznych ilości fitaz. Dzięki zastosowaniu postbiotyków (oczyszczonych enzymów fitaz), w trakcie fermentacji ciasta możliwa jest defosforylacja kwasu fitynowego, uważanego za składnik przeciwodżywczy. Duże nadzieje wiąże się także z wprowadzaniem enzymów fosforolitycznych na etapie wypieku pieczywa. Palacios i wsp. [31] zaobserwowali, że zastosowanie fitaz zwiększa biodostępność wybranych składników odżywczych i związków mineralnych, a technologicznie – wpływa na poprawę tekstury finalnego produktu. Duliński i wsp. [13] udowodnili natomiast, że odpowiednia kombinacja preparatów fitazy jako dodatków do ciasta żytniego powoduje 97-procentową redukcję poziomu kwasu fitynowego, co może być bardzo efektywnym rozwiązaniem.

Postbiotyki mogą być przydatne jako wolne od drobnoustrojów suplementy diety, fermentowana żywność funkcjonalna i leki stosowane w profilaktyce oraz uzupełniające leczenie wielu chorób, a także dodatki do żywności. Badania postbiotyków stanowią nie tylko podstawę zrozumienia mechanizmów ich działania, ale także opracowania nowych strategii terapeutycznych w celu poprawy zdrowia. Z drugiej strony stopniowo

następuje rozwój nowoczesnych technik manipulacji genetycznej, co stwarza możliwości rozwoju nowych bioinżynieryjnych szczepów probiotycznych zdolnych do wytwarzania metabolitów ukierunkowanych na zapobieganie i leczenie wielu chorób.

Nadal jednak potrzebne są dogłębne badania związane z aspektami bezpieczeństwa i postanowienia dotyczące regulacji prawnych. Ponadto istotne jest przyjęcie wspólnej definicji postbiotyków, co z pewnością ułatwi ich identyfikację, badania, produkcję, wprowadzanie do obrotu czy kontrolę jakości, ale także pośrednio może przyczynić się do zwiększenia zainteresowania postbiotykami przez producentów żywności i konsumentów [10].

Podsumowanie

Postbiotyki mogą przyczyniać się do poprawy zdrowia człowieka poprzez zapewnienie określonych efektów fizjologicznych, podobnie jak probiotyki. Dokładne mechanizmy działania postbiotyków nie zostały jednak w pełni wyjaśnione. Niewątpliwą zaletą stosowania postbiotyków jest ich bezpieczeństwo, łatwość dawkowania, a także stabilność podczas przechowywania. W pewnych okolicznościach, gdy probiotyki okazują się niemożliwe do stosowania, postbiotyki to jedyna bezpieczna alternatywa.

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania zastosowaniem postbiotyków w technologii żywności, przede wszystkim jako biokonserwantów (bakteriocyny), ale także innych dodatków funkcjonalnych (egzopolisacharydy, enzymy i inne). Pomimo wielu obiecujących danych wydaje się, że konieczne są dalsze badania w celu identyfikacji i zrozumienia mechanizmów działania postbiotyków, a także optymalizacji ich skuteczności. Potwierdzenia wymaga określenie skuteczności postbiotyków w działaniu polegającym na poprawie zdrowia człowieka. Związane jest to z przeprowadzeniem dużych, dobrze zaprojektowanych, randomizowanych, prowadzonych metodą podwójnej ślepej próby, kontrolowanych placebo badań klinicznych z udziałem ludzi, a także badań metabolomicznych.

Literatura

- [1] Ale E.C., Bourin M.J.B., Peralta G.H., Burns P.G., Ávila O.B., Contini L., Reinheimer J., Binetti A.G.: Functional properties of exopolysaccharide (EPS) extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2 and its impact when combined with *Bifidobacterium animalis* INL1 in yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2019, 96, 114-125.
- [2] Aguilar-Toalá J.E., García-Varela R., García H.S., Mata-Haro V., González-Córdova A.F., Vallejo-Cordoba B., Hernández-Mendoza A.: Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci. Technol.*, 2018, 75, 105-114.
- [3] Amaretti A., di Nunzio M., Pompei A., Raimondi S., Rossi M., Bordoni A.: Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *In vitro* and *in vivo* activities. *Appl. Microbiol.*, 2013, 97 (2), 809-817.
- [4] Back S.-Y., Jin H.-H., Lee S.-Y.: Inhibitory effect of organic acids against *Enterobacter sakazakii* in laboratory media and liquid foods. *Food Control*, 2009, 20, 867-872.

- [5] Berthold-Pluta A., Pluta A., Garbowska M., Stasiak-Róžańska L.: Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria – health-promoting properties and application in the dairy industry. *Post. Mikrobiol.*, 2019, 58 (2), 191-204.
- [6] Canonici A., Siret C., Pellegrino E., Pontier-Bres R., Pouyet L., Montero M.P., Colin C., Czerucka D., Rigot V., André F.: *Saccharomyces boulardii* improves intestinal cell restitution through activation of the $\alpha 2\beta 1$ integrin collagen receptor. *PLoS One*, 2011, 6 (3), #e18427.
- [7] Chen H., Hoover D.G.: Bacteriocins and their food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2003, 2, 82-100.
- [8] Chi E., Dao D., Lau T.C., Henriksbo B.D., Cavallari J.F., Scjhzertzer J.: Bacterial peptidoglycan stimulates adipocyte lipolysis via NOD1. *PLoS One*, 2014, 9, #e97675.
- [9] Cicienia A., Santangelo F., Gambardella L., Pallotta L., Iebba V., Scirocco A., Marignani M., Tellan G., Carabotti M., Corazziari E.S., Schippa S., Severi C.: Protective role of postbiotic mediators secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG versus lipopolysaccharide-induced damage in human colonic smooth muscle cells. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2016, 50, 140-144.
- [10] Collado M.C., Vinderola G., Salminen S.: Postbiotics: Facts and open questions. A position paper on the need for a consensus definition. *Benef. Microbes*, 2019, 10, 1-10.
- [11] DeGruttola A.K., Low D., Mizoguchi A., Mizoguchi E.: Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2016, 22 (5), 1137-1150.
- [12] Del Carmen Beristain-Bauza S., Mani-López E., Palou E., López-Malo A.: Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef. *Food Microbiol.*, 2017, 62, 207-211.
- [13] Duliński R., Żyła K.: Wpływ egzogennych preparatów fitaz na zawartość fosforanów inozytolu w cieście i pieczywie żytnim. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 2 (63), 53-66.
- [14] Escamilla J., Lane M.A., Maitin V.: Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutr. Cancer*, 2012, 64 (6), 871-878.
- [15] Gabriele H.: Requirements for a successful future of probiotics. In: *Advances in Probiotic Technology*. Eds. P. Foerst, C. Santivarangkna. CRC Press, Boca Raton 2016, pp. 139-145.
- [16] Gao J., Li Y., Wan Y., Hu T., Liu L., Yang S., Gong Z., Zeng Q., Wei Y., Yang W., Zeng Z., He X., Huang S.H., Cao H.: A novel postbiotic from *Lactobacillus rhamnosus* GG with a beneficial effect on intestinal barrier function. *Front. Microbiol.*, 2019, 10, #477.
- [17] Imperial I.C.V.J., Ibana J.A.: Addressing the antibiotic resistance problem with probiotics: Reducing the risk of its double-edged sword effect. *Front. Microbiol.*, 2016, 7, #1983.
- [18] Kang J.H., Lee M.S.: Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Pediococcus acidilactici* GMB7330 isolated from infant feces. *Korean J. Microbiol.*, 2005, 41, 152-156.
- [19] Kareem K.Y., Hooi Ling F., Teck Chwen L., May Foong O., Anjas Asmara S.: Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. *Gut Pathog.*, 2014, 6, #23.
- [20] Kerry R.G., Patra J.K., Gouda S., Park Y., Shin H.S., Das G.: Benefaction of probiotics for human health: A review. *J. Food Drug Anal.*, 2018, 26 (3), 927-939.
- [21] Lahti E., Johansson T., Honkanen-Buzalski T., Hill P., Nurmi E.: Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. *Food Microbiol.*, 2001, 18 (1), 75-85.
- [22] Mariam S.H., Zegeye N., Tariku T., Andargie E., Endalafar N., Aseffa A.: Potential of cell-free supernatants from cultures of selected lactic acid bacteria and yeast obtained from local fermented foods as inhibitors of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. *BMC Res. Notes.*, 2014, 7(1), #606.
- [23] Mulkyte K., Kasnauskyste N., Serniene L., Gözl G., Alter T., Kaskoniene V., Maruska A.S., Malakauskas M.: Characterization and application of newly isolated nisin producing *Lactococcus lactis* strains for control of *Listeria monocytogenes* growth in fresh cheese. *LWT Food Sci. Technol.*, 2018, 87, 507-514.

- [24] Nakamura F., Ishida Y., Sawada D., Ashida, N., Sugawara T., Sakai M., Fujiwara S.: Fragmented lactic acid bacteria cells activate peroxisome proliferator-activated receptors and ameliorate dyslipidemia in obese mice. *J. Agric. Food Chem.*, 2016, 64, 2549-2559.
- [25] Nissa A., Utami R., Sari A.M., Nursiwi A.: Combination effect of nisin and red ginger essential oil (*Zingiber officinale var. rubrum*) against food borne pathogens and food spoilage microorganisms. *AIP Conf. Proc.*, 2014, 1, #020023.
- [26] Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z.: Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 4 (71), 5-19.
- [27] Ogawa A., Kadooka Y., Kato K., Shirouchi B., Sato M.: *Lactobacillus gasseri* SBT2055 reduces postprandial and fasting serum non-esterified fatty acid levels in Japanese hypertriglycerolemic subjects. *Lipids Health Dis.*, 2014, 13, #36.
- [28] Oidak A., Zielińska D., Rzepkowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Comparison of antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from two different kinds of regional cheeses from Poland: Oscypek and Koryciński cheese. *Biomed Res. Int.*, 2017, 2, 1-10.
- [29] Omarov T.R., Omarova L.A., Omarova V.A., Sarsenova S.V.: The chronic gastritis, the dysbacteriosis and the use of Hylak forte at the treatment. *Wiadomości Lek.*, 2014, 67, 365-367.
- [30] Oshima S., Hirano A., Kamikado H., Nishimura J., Kawai Y., Saito T.: Nisin A extends the shelf life of high-fat chilled dairy dessert, a milk-based pudding. *J. Appl. Microbiol.*, 2014, 116, 1218-1228.
- [31] Palacios M.C., Haros M., Sanz Y., Rosell M.: Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. *LWT. Food Sci. Technol.*, 2008, 41, 82-92.
- [32] Paul B., Barnes S., Demark-Wahnefried W., Morrow C., Salvador C., Skibola C., Tollefsbol T.O.: Influences of diet and the gut microbiome on epigenetic modulation in cancer and other diseases. *Clin. Epigenetics*, 2015, 7, #112.
- [33] Pessi T., Sütas Y., Saxelin M., Kallioinen H., Isolauri E.: Antiproliferative effects of homogenates derived from five strains of candidate probiotic bacteria. *Appl. Environ. Microb.*, 1999, 65, 4725-4728.
- [34] Phister T.G., O'Sullivan D.J., McKay L.L.: Identification of bacilysin, chlorotetaine, and iturin A produced by *Bacillus* sp. strain CS93 isolated from Pozol, a Mexican fermented maize dough. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70, 631-634.
- [35] Rather I.A., Seo B.J., Kumar V.J.R., Choi U.H., Lim J.H., Park Y.H.: Isolation and characterization of a proteinaceous antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* YML007 and its application as a food preservative. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2013, 57, 69-76.
- [36] Ribeiro S., Ross R., Stanton C., Silva C.: Characterization and application of antilisterial enterocins on model fresh cheese. *J. Food Protection*, 2017, 80 (8), 1303-1316.
- [37] Saide J.A., Gilliland S.E.: Antioxidative activity of *Lactobacilli* measured by oxygen radical absorbance capacity. *Int. J. Dairy Sci.*, 2005, 88 (4), 1352-1257.
- [38] Sasikumar K., Vaikkath D.K., Devendra L., Nampoothiri K.M.: An exopolysaccharide (EPS) from a *Lactobacillus plantarum* BR2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresour. Technol.*, 2017, 241, 1152-1156.
- [39] Sheflin A.M., Whitney A.K., Weir T.L.: Cancer – promoting effects of microbial dysbiosis. *Curr. Oncol. Rep.*, 2014, 16 (10), #406.
- [40] Shigwedha N., Sichel L., Jia L., Zhang L.: Probiotal cell fragments (PCFs) as “novel nutraceutical ingredients”. *J. Biosciences*, 2014, 2, 43-55.
- [41] Shimamura S., Abe F., Ishibashi N., Miyakawa H., Yaeshima T., Araya T., Tomita M.: Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. *Int. J. Dairy Sci.*, 1992, 75, 3296-3306.
- [42] Sütas Y., Soppi E., Korhonen H., Syväoja E.L., Saxelin M., Rokka T., Isolauri E.: Suppression of lymphocyte proliferation *in vitro* by bovine caseins hydrolysed with *Lactobacillus* GG-derived enzymes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 98, 216-24.
- [43] Timko J.: Probiotics as prevention of radiation-induced diarrhea. *J. Radiother. Pract.*, 2010, 9 (4), 201-208.

- [44] Tiptiri-Kourpeti A., Spyridopoulou K., Santarmaki V., Aindelis G., Tompoulidou E., Lampranidou E.E., Chlichlia K.: *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. PLoS One, 2016, 11 (2), #e0147960.
- [45] Tomasik P.: Probiotics, non-dairy prebiotics and postbiotics in nutrition. Appl. Sci., 2020, 10 (4), #1470.
- [46] Tran H., Bac L.G., Nguyen D.C., Le T., Pham K., Nguyen D.H., Hoang Thi T.T.: Evaluation of factors affecting antimicrobial activity of bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* microencapsulated in alginate-gelatin capsules and its application on pork meat as a bio-preservative. Int. J. Environ. Res. Public Health, 2019, 16 (6), #1017.
- [47] Tsilingiri K., Rescigno M.: Postbiotics: What else? Benef. Microbes, 2012, 4 (1), 101-107.
- [48] Urbonaviciene D., Viskelis P., Bartkiene E., Juodeikiene G., Vidmantiene D.: The use of Lactic Acid Bacteria in the fermentation of fruits and vegetables – technological and functional properties. Bio-technol., 2015, 7, 135-164.
- [49] Venema K.: Foreword. Benef. Microbes, 2013, 4 (1), 1-2.
- [50] Vijayakumar P., Muriana P.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat meats using bacteriocin mixtures based on mode-of-action. Foods, 2017, 6 (3), #22.
- [51] Walczycka M.: Metody inaktywacji i hamowania wzrostu *Listeria monocytogenes* w przetworach mięsnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, 2 (43), 61-72.
- [52] Wegh C.A.M., Geerlings S.Y., Knol J., Roeselers G., Belzer C.: Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. Int. J. Mol. Sci., 2019, 20 (19), #4673.
- [53] West R., Roberts E., Sichel L.S., Sichel J.: Improvements in gastrointestinal symptoms among children with autism spectrum disorder receiving the Delpro Probiotic and immunomodulator formulation. J. Prob. Health, 2013, 1 (102), #2.

POSTBIOTICS – PROPERTIES, APPLICATION AND IMPACT ON HUMAN HEALTH

S u m m a r y

Eating food is a basic human physiological need necessary for survival. The microbiome inhabiting the human digestive tract includes bacteria, and some of them referred to as probiotic have a positive effect on human health. Some of their beneficial properties can be attributed to the characteristic metabolites of the microbiome, called postbiotics – a component of the cell walls of specific probiotic strains or lysates released as a result of the breakdown of bacterial cells. The manner and effects of postbiotics on human health have not yet been fully understood. Nevertheless, there are more and more studies that indicate their action to reduce inflammation and oxidative stress, eliminate the presence of harmful pathogens and stimulate the human immune system. In addition postbiotics can be used in food technology as preservatives, texture enhancers or functional additives. The undoubted advantage of using postbiotics is their safety, ease of dosing and stability during storage. In this paper definitions of postbiotics, their functions and characteristics of postbiotic substances as food ingredients and their impact on body functions were discussed. Based on an in-depth analysis of the literature on the subject, it should be noted that despite the many promising data, it seems that further research is needed to identify and understand the mechanisms of action of postbiotics and to optimize their effectiveness. First of all, confirmation of the effectiveness of postbiotics in the action of improving human health requires confirmation.

Key words: postbiotics, properties, mechanisms of action, food 

JAGODA O. SZAFRAŃSKA, MAGDALENA POLAK-BERECKA

PLANTARYCYNY – BIOSYNTETA, MECHANIZM DZIAŁANIA I POTENCJAŁ W ZAPEWNIANIU BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Scharakteryzowano właściwości, strukturę oraz spektrum aktywności plantarycyn wytwarzanych przez niektóre szczepy *Lactobacillus*. Przedstawiono ich klasyfikację, mechanizm biosyntezy, modele działania na inne bakterie oraz stabilność. Plantarycyny są dość różnorodne pod względem właściwości fizykochemicznych, struktury i spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Szczepy *Lactobacillus plantarum* zdolne do syntezy plantarycyn należą do mikroorganizmów najczęściej obecnych w fermentowanych produktach spożywczych, a także w napojach i innych wyrobach z dodatkiem mleka. Budowa cząsteczek, ich stabilność oraz mechanizm działania sprawiają, że plantarycyny charakteryzują się skutecznym działaniem bakteriobójczym. Ze względu na niewielką oporność organizmów patogennych na te substancje mogą być one alternatywą dla wielu stosowanych obecnie związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Plantarycyny wpływają na zahamowanie wzrostu drobnoustrojów chorobotwórczych, a w konsekwencji na poprawę zdrowia człowieka. Z uwagi na coraz większe zainteresowanie produktami naturalnymi plantarycyny mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Wyniki badań dotyczące ich wykorzystania mogą stać się podstawą do projektowania efektywnych preparatów probiotycznych, kultur starterowych do produkcji fermentowanej żywności czy nowych metod zabezpieczania żywności, co w konsekwencji wpłynie na poprawę zdrowia i jakości życia człowieka.

Słowa kluczowe: plantarycyny, bezpieczeństwo żywności, *Lactobacillus plantarum*, operon plantarycyny

Wprowadzenie

Bakterie należące do gatunku *Lactobacillus plantarum* zasiedlają różnorodne nisze ekologiczne. Występują m.in. w mięsie, nabiale, warzywach oraz w produktach fermentowanych różnego pochodzenia, takich jak: ogórki, oliwki, sorgo, piwo, jęczmień, melasa, kefir oraz amasi (fermentowane mleko o smaku twarożku lub jogurtu

Mgr inż. J. O. Szafrąńska, Katedra Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, Zakład Technologii Mleka i Hydrokoloidów, dr hab. M. Polak-Berecka, prof. UP, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: magdalena.polak-berecka@up.lublin.pl

naturalnego). Istotnym środowiskiem bytowania tego gatunku jest również układ pokarmowy człowieka. Bakterie *Lb. plantarum* są zdolne do syntezy większości aminokwasów *de novo* [10]. Fermentacja pentoz (ksylozy i rybozy) prowadzi do powstania pirogronianu i acetylofosforanu, a następnie konwersji tych związków do mleczanu i octanu. Z kolei heksozy (glukoza, fruktoza, mannoza) są przekształcane w mleczan, ditlenek węgla i etanol [10].

Niektóre szczepy bakterii w konkurencji z innymi drobnoustrojami o niszę ekologiczną wykorzystują zdolność wytwarzania związków przeciwdrobnoustrojowych, w szczególności bakteriocyn, czyli bakteriobójczych peptydów, syntetyzowanych rybosomalnie, o działaniu hamującym na różne grupy niepożądanych mikroorganizmów [24]. Zdolność taką wykazuje wiele szczepów z gatunku *Lb. plantarum*, produkujących substancje zwane plantarycynami. Związki te są syntetyzowane na rybosomach i mogą hamować wzrost zarówno gatunków pokrewnych, jak i odległych filogenetycznie [27].

Według ogólnej klasyfikacji plantarycyny w większości zalicza się do klasy II bakteriocyn. Są to nielantybiotyki, czyli białka termostabilne o masie poniżej $10 \cdot 10^3$ Da. Część poznanych plantarycyn to bakteriocyny dwupeptydowe. Zalicza się je do podklasy IIb. Ich aktywność zależy od komplementarnego działania dwóch peptydów. Przykładami takich bakteriocyn są plantarycyna JK oraz plantarycyna EF wytwarzane przez *Lb. plantarum* C11 [31]. Pozostałe szczepy z gatunku *Lb. plantarum* wytwarzają bakteriocyny, których aktywność nie zależy od obecności dwóch peptydów. Należące do klasy IIa działają podobnie do pediocyny. Przykładem jest plantarycyna BM-1 produkowana przez *Lb. plantarum* BM-1, szczep wyizolowany z tradycyjnie fermentowanego mięsa [46]. Dodatkowo niektóre z nich mogą być zaliczane do klasy I bakteriocyn znanych jako lantybiotyki, czyli policykliczne peptydy o masie cząsteczkowej mniejszej niż $5 \cdot 10^3$ Da, np. plantarycyna C wytwarzana przez *Lb. plantarum* LL441 [42].

Biosynteza

Geny odpowiedzialne za biosyntezę bakteriocyn mogą być zlokalizowane na chromosomie bakteryjnym lub plazmidach. Zdolność do syntezy związków przeciwdrobnoustrojowych może w przypadku niektórych szczepów być cechą niestabilną, wskazującą na istnienie mechanizmów regulacyjnych [27]. Spośród różnych systemów opisujących sposób produkcji bakteriocyn przez szczepy *Lb. plantarum* [11, 22, 32] najlepiej poznany i opisany został regulon szczepu *Lb. plantarum* C11. Składa się on z pięciu operonów. Pierwszy z nich, regulatorowy, koduje peptyd indukcyjny (PInA). Peptydy indukcyjne PP (ang. *peptide pheromones*) przemieszczają się dzięki ABC-transporterom. Wszystkie należące do klasy II bakteriocyny są wytwarzane z prekursora N-terminalnego. Proces ten jest jednakowy dla wszystkich bakteriocyn [23]. Drugi operon składa się z histydynowej kinazy białkowej (PInB) oraz dwóch regulatorów

odpowiedzi (PlnC i PlnD) [20; 23]. Białko regulacji odpowiedzi RR (ang. *response regulator protein*) jest ostatnim elementem szlaku sygnałowego biosyntezy bakteriocyn. Ufosforylowane białko RR wiąże się do promotorów regulatorowych i aktywuje transkrypcję genów biorących udział w syntezie bakteriocyny [23]. Operony plnEFI i plnJKLR kodują dwupeptydowe bakteriocyny: PlnEF i PlnJK oraz odpowiadające im białka odporności. Operon plnMNOP zawiera takie geny, jak plnN, o nieznanym funkcjach związanych z syntezą bakteriocyny. Ostatni operon plnGHSTUVWXY koduje białka układu transportowego ABC, który wydziela i przetwarza prekursor bakteriocyny. Peptyd PlnA indukuje transkrypcję tych pięciu operonów [12].

Podobną strukturę i sekwencję genu *pln* odkryto u *Lb. plantarum* WCFS1, który został wyizolowany z ludzkiej śliny [21]. Natomiast inną organizację locus *pln* opisano w przypadku szczepu *Lb. plantarum* NC8 wytwarzającego indukowalną dwupeptydową plantarycinę NC8 β a, której operon regulatorowy obejmuje peptyd indukujący PlnC8IF, histydynową kinazę białkową PlnC8HK i regulator odpowiedzi PlnD [25]. Szczepy *Lb. plantarum* J23 i J51 wykazują pewne wspólne cechy z *Lb. plantarum* C11 i NC8, ale odkryto u nich nowe regiony, obejmujące nieznane wcześniej ramki odczytu (orfs) [37].

Mechanizm działania

W zależności od wielkości cząsteczki oraz budowy chemicznej plantarycyny mogą charakteryzować się różnymi mechanizmami działania na mikroorganizmy patogene (tab. 1).

Przeciwbakteryjne działanie plantarycin należących do podklasy IIb polega na hamowaniu biosyntezy kwasów nukleinowych, białek oraz ściany komórkowej poprzez oddziaływania elektrostatyczne z błoną komórkową i/lub tworzenie specyficznych wiązań ze składnikami błony komórkowej. Inny mechanizm działania na komórki bakterii polega na perforacji błony komórkowej, co w konsekwencji powoduje wyciek jonów i substancji niskocząsteczkowych, zaburza równowagę osmotyczną i skutkuje śmiercią komórki. Aby lepiej wytłumaczyć mechanizmy związane z tym sposobem oddziaływania zaproponowano ich opis według modelu dywanowego (*barrel-stave*) i modelu klinowego [44]. Model opisujący tworzenie porów w błonie cytoplazmatycznej *barrel-stave* powiązano z aktywnością bakteriocyn należących do klasy IIb. Komplementarne działanie tych związków powoduje, że łączą się, tworząc kompleks między jednym lub dwoma peptydami amfifilowymi, co wpływa na ich oligomeryzację oraz na tworzenie porów w membranie i kanałów jonowych [36]. Model dywanowy opisuje działanie pojedynczych peptydów, które mogą być zorientowane równolegle do powierzchni membrany i zakłócać organizację dwuwarstwową błony bez tworzenia agregatu peptydowego. Gdy we wzajemnym sąsiedztwie znajduje się wystarczająco

dużo peptydów, membrana tymczasowo zapada się z powodu silnej aktywności mobilizującej fosfolipidów, która powoduje lokalną i przejściową przenikalność [28].

Tabela 1. Zakres aktywności przeciwdrobnoustrojowej bakteriocyn wytwarzanych przez szczepy *Lactobacillus plantarum*

Table 1. Range of antimicrobial activity of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* strains

Szczep Strain	Plantarycyna Plantaricin	Gatunki wrażliwe Sensitive species	Lit. Ref.
<i>Lb. plantarum</i> MBSa4	Dwa rodzaje Two types MBSa4	<i>Listeria monocytogenes</i>	[6]
<i>Lb. plantarum</i> KL-1	KL-1Y	<i>Salmonella</i> Enteritidis DMST 17368, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, <i>Escherichia coli</i> O157:H7 oraz <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	[35]
<i>Lb. plantarum</i> ST8SH	ST8SH	<i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Listeria</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	[40]
<i>Lb. plantarum</i> B391	B391	<i>Enterococcus faecalis</i> NCTC 775, <i>Clostridium perfringens</i> NCTC 13170, <i>Listeria monocytogenes</i>	[14]
<i>Lb. plantarum</i> LPC010	S i T	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Clostridium tyrobutyricum</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Propionibacterium</i> spp.	[19]
<i>Lb. plantarum</i> BM-1	BM-1	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.	[46]
<i>Lb. plantarum</i> 8P-A3	EFi NC8	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	[41]
<i>Lb. plantarum</i> PMU 33	W	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> supsp <i>sakei</i> JCM 1157, <i>Lactobacillus curvatus</i> ATCC 25601, <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ATCC 10830, <i>Listeria innocua</i> IFRPD 2071, <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 884, <i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8081, <i>Pediococcus pentosaceus</i> TISTR 374, <i>Propionibacterium freudenreichii</i> TISTR 446, <i>Staphylococcus aureus</i>	[30]
<i>Lb. plantarum</i> LL441	C	<i>Lactobacillus fermentum</i> LMG 13554, <i>Lactobacillus sakei</i> CECT 906	[16]
<i>Lb. plantarum</i> C19	C19	<i>Listeria grayi</i> IP 6818	[3]
<i>Lb. plantarum</i> 432	423	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Listeria</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp.	[43]
<i>Lb. plantarum</i> C11	EF i JK	<i>Pediococcus pentosaceus</i> Pac 1.0, <i>Pediococcus pentosaceus</i> NCDO 990, <i>Pediococcus acidilactici</i> CH, <i>Lactobacillus plantarum</i> 965, <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> NCDO 161, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NCDO 2714, <i>Lactobacillus viridescens</i> NCDO 1655, <i>Lactobacillus plantarum</i> UI50, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> 706, <i>Lactobacillus curvatus</i> 89, <i>Chryseobacterium piscicola</i> UI49	[2]

<i>Lb. plantarum</i> NC8	NC8	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> LB76, <i>Lactobacillus pentosus</i> ATCC 8041, <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NCFB 2714, <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> CNRZ 485, <i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB63	[25; 26]
<i>Lb. plantarum</i> BF001	F	Niektóre bakterie z rodzajów / Some bacteria of the genera: <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Salmonella</i> i <i>Pseudomonas</i>	[15]
<i>Lb. plantarum</i> TMW1.25	1.25a	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus coryniformis</i> LMG2308	[34]
<i>Lb. plantarum</i> LPL-1	LPL-1	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	[45]
<i>Lb. plantarum</i> 163	163	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114, <i>Bacillus pumilus</i> CMCC 63202, <i>Bacillus cereus</i> AS 1.1846, <i>Micrococcus luteus</i> CMCC 28001, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> AS 1.2620, <i>Pseudomonas fluorescens</i> AS 3.6452	[5]
<i>Lb. plantarum</i> A-1	ASM1	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus lindneri</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	[4]
<i>Lb. plantarum</i> 510	Y	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> BCRC 14622T, <i>Weissella paramesenteroides</i> BCRC 14006T, <i>Weissella hellenica</i> BCRC 80264T, <i>Weissella minor</i> BCRC 14049T, <i>Weissella viridescens</i> BCRC 11650T, <i>Lactococcus taiwanensis</i> BCRC 80460T, <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> BCRC 13869T, <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> BCRC 10255T	[8]
<i>Lb. plantarum</i> ZJ5	ZJ5	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	[38]

Do innych mechanizmów działania plantarycyń na komórki bakterii należy rozproszenie potencjału błonowego i zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia adenylozotryfosforanu (ATP). Aktywność peptydów bakteriocyń klasy IIB jest dość niska, gdy działają indywidualnie [6]. Przykładem mogą być wytwarzane przez szczep *Lb. plantarum* C11 plantarycyny E i F należące do dwupeptydowych bakteriocyń. Ich działanie polega na wiązaniu się z określonym białkiem błonowym (receptorem plantarycyny). Interakcja między plantarycyną a białkiem receptorowym prowadzi do perforacji błony komórkowej i zwiększenia jej przepuszczalności względem małych cząstek, co w efekcie prowadzi do śmierci komórki [29].

Stabilność

Na stabilność oraz związaną z nią aktywność bakteriocyń wpływ ma wiele czynników, np. temperatura, pH, stopień oczyszczenia oraz obecność składników ochronnych w środowisku [18]. Większość bakteriocyń o niskiej masie cząsteczkowej, jak

plantarycyny, przy pH 7 przejawia charakter kationowy i wykazuje większą aktywność przeciwdrobnoustrojową przy niskim pH. Innymi czynnikami, które mogą wpływać na spektrum aktywności plantarycyn są enzymy proteolityczne, sole i detergenty oraz skład aminokwasowy cząsteczki plantarycyny [39].

W badaniach nad dwupeptydową plantarycyną wytwarzaną przez *Lb. plantarum* MBSa4 wykazano, że aktywność utrzymywała się w zakresie 4 ÷ 100 °C. Dodatkowo stwierdzono, że plantarycyna pozostawała aktywna przez 15 min w temp. 121 °C oraz w zakresie pH 2 ÷ 6. Natomiast w środowisku o pH 8 część aktywności została utraczona, zaś kompletna inaktywacja była zauważalna przy pH 10 [7]. Rumjuankiat i wsp. [35] badali trzy plantarycyny: KL-1X, KL-1Y oraz KL-1Z wytwarzane przez *Lb. plantarum* KL-1 i wykazali, że bakteriocyny te zachowywały stabilność w środowisku o pH 2 ÷ 6 oraz cechowały się odpornością na endoproteinazę Glu-C, natomiast były wrażliwe na proteazę typu XIII i pepsynę. Zarówno plantarycyna KL-1R, jak i KL-1Z były całkowicie inaktywowane przez tripsynę, α -chymotrypsynę, proteazy typu XIII, pepsynę i aktynazy E, ale tylko plantarycyna KL-1Z była wrażliwa na proteinazę K [35]. Gwiazdowska i Trojanowska [18] potwierdziły, że na stabilność plantarycyn wpływ mają także takie związki, jak rozpuszczalniki organiczne, surfaktanty czy czynniki redukujące [18].

Dzięki wysokiej termostabilności plantarycyn oraz aktywności w szerokim zakresie pH można rozważać wykorzystanie tych związków w procesach produkcyjnych żywności związanych z obróbką termiczną.

Mechanizmy oporności

Mechanizmy komórkowe oporności na bakteriocyny można zaliczyć do oporności nabytej, która rozwinęła się u szczepów wcześniej wrażliwych i oporności wrodzonej, która jest charakterystyczna tylko dla określonych rodzajów lub gatunków bakterii.

Do tej pory w literaturze naukowej opisano tylko kilka szczepów bakterii, które rozwinęły oporność na plantarycyny, jak np. *L. monocytogenes* ATTC15313 na plantarycynę C19 [33]. Wykazano, że mutanty *L. monocytogenes* ATTC15313 odporne na jedną z trzech badanych bakteriocyn klasy II – mesenterocynę 52B (IIc), kurwacynę 13 (IIa) i plantarycynę C19 (IIa) – wykazywały pewien stopień oporności krzyżowej na dwie pozostałe. Związane jest to ze stosowaniem dwóch lub większej liczby różnych rodzajów plantarycyn, o różnych mechanizmach działania, co w konsekwencji może wpływać na zmniejszenie oporności na plantarycynę wśród organizmów patogennych [8].

W 2017 roku prowadzono badania dotyczące oporności szczepu *W. viridescens* NCFB 1655 na plantarycynę JK. Stwierdzono, że oporność na plantarycynę jest wynikiem mutacji w genie związanym z rodziną białek transporterowych APC (ang. *amino-*

acid-polyamine-organocation). Po pojawieniu się mutacji punktowej w kodonie 377 aminokwasu alaniny mutanty uzyskiwały odporność na działanie bakteriocyny [13].

Poznanie mechanizmów związanych z nabywaniem oporności na plantarycyny jest ważne w celu uzyskania pełnej wiedzy o sposobie działania tych bakteriocyn, a także zapobiegania w przyszłości zjawisku powstawania oporności bakterii patogennych na działanie plantarycyn. W przypadku bakterii kwasu mlekowego (ang. Lactic Acid Bacteria, LAB) geny produkcji plantarycyny i geny odporności są na ogół blisko zlokalizowane lub ściśle powiązane ze sobą. Natomiast u *Lb. plantarum* LPCO10, który wytwarza dwa rodzaje plantarycyn S i T, te dwie cechy można rozdzielić. Jiménez-Díaz i wsp. [19] wykazali niezależność fenotypów Bac⁺ i Bac^f u tego szczepu, co może być wykorzystane do konstruowania szczepów odpornych na plantarycynę [19].

Wykorzystanie bakteriocyn wytwarzanych przez szczepy *Lb. plantarum*

Produkcja żywności

Coraz większe zainteresowanie konsumentów naturalnymi produktami spożywczymi spowodowało, że badacze z całego świata chętniej testują możliwość zastosowania plantarycyn jako naturalnych konserwantów żywności [1]. Zhang i wsp. [48] wykazali, że plantarycyna wytwarzana przez szczep *Lb. plantarum* TK9 wyizolowany z naturalnie fermentowanej owsianki ryżowej, zwanej congee, działa hamująco na wzrost większości gatunków powodujących psucie się żywności, takich jak: *Penicillium roqueforti*, *P. citrinum*, *P. oxalicum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* oraz *Rhizopus nigricans*. Stwierdzili także, że plantarycyny mogą przedłużyć okres trwałości żywności nawet do 72 ÷ 96 h [48]. Todorov i wsp. [40] analizowali bakteriobójczą aktywność plantarycyny ST8SH wytwarzanej przez szczep *Lb. plantarum* ST8SH i działającej hamująco na wzrost *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria* spp., *Streptococcus* spp. oraz niektórych bakterii patogennych powodujących choroby u ludzi. Z kolei Fernandes i wsp. [14] stwierdzili szerokie spektrum działania plantarycyny B391 w szczególności przeciwko wielu szczepom z rodzaju *Listeria* spp., *E. faecalis* oraz *Cl. perfringens*. Takie spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej umożliwia zastosowanie plantarycyny B391 jako związku zapewniającego bezpieczeństwo biologiczne żywności, w szczególności w przemyśle mleczarskim, poprzez ograniczenie wzrostu i rozwoju *L. monocytogenes* w mleku przez długi okres [14].

Szczepy *Lb. plantarum* wytwarzające plantarycyny są wykorzystywane jako kultury starterowe w produkcji fermentowanych produktów spożywczych. Starterami nazywa się odpowiednio wyselekcjonowane drobnoustroje, które dodane do żywności mają na celu poprawę smaku i wyglądu produktu końcowego. Szczep *Lb. plantarum* 423 wytwarzający plantarycynę oraz *Lb. curvatus* DF126 syntetyzujący kurwacynę

zostały wraz z *Micrococcus* spp. MC50 połączone w kulturę starterową. Taka kokultura bakterii skutecznie hamowała wzrost *L. monocytogenes* w salami. Szczep *Lb. plantarum* 423 jest uważany za cenny składnik kultur starterowych w produkcji salami z różnych rodzajów mięsa. Wyniki badań wskazują, że wpływa na poprawę cech sensorycznych produktu [13].

Penteado i wsp. [cyt. za 9] wykazali, że szczepy *Lb. plantarum* wykorzystywane do produkcji kiszonki trawy mombaça dzięki swojej aktywności wpływały na poprawę intensywności fermentacji oraz sprzyjały rozwojowi innych dobroczynnych bakterii mlekowych.

Plantarycyny mogą być również wykorzystane jako czynnik aktywny wchodzący w skład bioaktywnych opakowań. Ten typ opakowań może chronić żywność nie tylko przed zanieczyszczeniami zewnętrznymi, ale także, dzięki obecności bakteriocyn wbudowanych w strukturę opakowania danego produktu spożywczego, osłaniać go przed psuciem, które zazwyczaj zaczyna się od wewnątrz. Istnieje kilka sposobów przygotowania foliowych opakowań zawierających omawiane substancje. Jednym z nich jest wprowadzenie plantarycyny bezpośrednio do polimerów poprzez prasę cieplną. Inna metoda polega na opłaszczaniu lub adsorpcji plantarycyn do powierzchni polimeru. Stopniowe uwalnianie substancji z opakowania na powierzchnię żywności jest skuteczniejsze od innych metod, np. rozpylania czy zanurzania produktu w samej bakteriocynie [18]. Zhang i wsp. [47] opracowali i scharakteryzowali biologicznie konserwujące folie polietylenowe (PE) zawierające plantarycynę BM-1 wytwarzaną przez *Lb. plantarum* BM-1. Wykazali, że PE o niskiej gęstości (LDPE) i opakowania foliowe o dużej gęstości PE (HDPE) namoczone w roztworze plantarycyny BM-1 wykazywały działanie przeciwdrobnoustrojowe przeciwko *L. monocytogenes*. Ponadto efekt hamujący wzrost patogenów w przypadku aktywnych opakowań zawierających plantarycynę BM-1 był stabilny co najmniej przez 120 dni w temp. 25 °C.

Zastosowanie w medycynie

Szczepy *Lb. plantarum* wytwarzające plantarycyny są dodawane do leków i suplementów diety mających na celu poprawę zdrowia ludzi. Jednym z takich szczepów jest *Lb. plantarum* 8P-A3, syntetyzujący plantarycynę EF oraz plantarycynę NC8. Pomimo tego, że nie poznano dokładnego mechanizmu działania tego szczepu, na podstawie obserwacji stwierdzono, że działa przeciw bakteriom chorobotwórczym *Streptococcus agalactiae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* czy *Klebsiella pneumoniae* i jest stosowany od 1973 r. jako dodatek do produktów probiotycznych [41]. Z kolei bakteriocyny wytwarzane przez szczep *Lb. plantarum* LD1 działają hamująco na wzrost takich patogennych mikroorganizmów, jak *S. aureus*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa*, odpowiedzialną za infekcje dróg moczowych i pęcherza. *E. coli* i *Vibrio* spp. [18].

Wykazano, że niektóre plantarycyny, zachowują swoją aktywność nawet w warunkach niskiego pH żołądka [17]. Tego rodzaju biologicznie aktywne związki są szczególnie pożądane i poszukiwane w czasie postępującej antybiotykooporności.

Podsumowanie

Plantarycyny wytwarzane przez różne szczepy *Lb. plantarum* charakteryzują się wysokim potencjałem aktywności przeciwdrobnoustrojowej, hamują wzrost mikroorganizmów powodujących psucie żywności oraz szczepów patogennych. Bakteriocyny te, ze względu na swoje właściwości, są w stanie przedłużać okres trwałości produktów spożywczych i zapobiegać rozwojowi większości gatunków powodujących ich psucie. Dzięki wykorzystaniu nowoczesnych technologii mogą stać się w przyszłości ważnym elementem codziennego życia, np. w postaci produktów spożywczych sprzedawanych w opakowaniach bioaktywnych.

W związku z rosnącym zainteresowaniem konsumentów naturalnymi produktami spożywczymi plantarycyny mogą być potencjalnymi związkami do wykorzystania w produkcji żywności i medycynie. Wyniki badań mogą stać się podstawą do projektowania preparatów probiotycznych sprzyjających poprawie zdrowia, komponowania efektywnych kultur starterowych do produkcji fermentowanej żywności, a także opracowania nowych naturalnych metod ochrony żywności.

Literatura

- [1] Abdulhussain Kareem R., Razavi S.H.: Plantaricin bacteriocins: As safe alternative antimicrobial peptides in food preservation – A review. *J. Food Saf.*, 2019, 40(1), #e12735. DOI: 10.1111/jfs.12735.
- [2] Anderssen E.L., Diep D.B., Nes I.F., Eijsink V.G.H., Nissen-Meyer J.: Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: Two new two-peptide bacteriocins, plantaricins EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64 (6), 2269-2272.
- [3] Atrih A., Rekhif N., Moir A.J., Lebrihi A., Lefebvre G.: Mode of action, purification and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-listeria bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, 68, 93-104.
- [4] Bactibase: Plantaricin ASM1 [on line]. Dostęp w Internecie [07.02.2020]: <http://bactibase.hammamilab.org/BAC185>
- [5] Bactibase: Plantaricin 161 [on line]. Dostęp w Internecie [07.02.2020]: <http://bactibase.hammamilab.org/BAC225>
- [6] Balciunas E.M., Martinez F.A.C., Todorov S.D., de Melo Franco B.D.G., Converti A., de Souza Oliveira R.P.: Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 2013, 32 (1), 134-142.
- [7] Barbosa M.S., Todorov S.D., Ivanova I.V., Belguesmia Y., Choiset Y., Rabesona H., Chobert J.-M., Haertlé T., Franco B.D.G.M.: Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami. *Food Control*, 2016, 60, 103-112.

- [8] Coelho M.L.V., Coutinho B.G., Santos O.C.S., Nes I.F., Bastos M.C.F.: Immunity to the *Staphylococcus aureus* leaderless four-peptide bacteriocin aureocin A70 is conferred by AurI, an integral membrane protein. *Res. Microbiol.*, 2014, 165 (1), 50-59.
- [9] Da Silva Sabo S., Vitolo M., Domínguez González J.M., de Souza Oliveira R.P.: Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. *Food Res. Int.*, 2014, 64, 527-536.
- [10] Diep D.B., Havarstein L.S., Nes I.F.: Characterization of the locus responsible for the bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* C11. *J. Bacteriol.*, 1996, 178, 4472-4483.
- [11] Diep D.B., Myhre R., Johnsborg O., Aakra A., Nes I.F.: Inducible bacteriocin production in *Lactobacillus* is regulated by differential expression of the pln operons and by two antagonizing response regulators, the activity of which is enhanced upon phosphorylation. *Mol. Microbiol.*, 2003, 47, 483-494.
- [12] Ekblad B., Nissen-Meyer J., Kristensen T.: Whole-genome sequencing of mutants with increased resistance against the two-peptide bacteriocin plantaricin JK reveals a putative receptor and potential docking site. *Plos One*, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0185279.
- [13] Favaro L., Todorov S.D.: Bacteriocinogenic LAB strains for fermented meat preservation: Perspectives, challenges, and limitations. *Probiotic. Antimicrob.*, 2017, 9 (4), 444-458.
- [14] Fernandes P., Loureiro D., Monteiro V., Ramos C., Nero L.A., Todorov S.D., Guerreiro J.S.: *Lactobacillus plantarum* isolated from cheese: Production and partial characterization of bacteriocin B391. *Ann. Microbiol.*, 2017, 67(1-2), 433-442.
- [15] Fricourt B.V., Barefoot S.F., Testing R.F., Hayasaka S.S.: Detection and activity of plantaricin F an antibacterial substance from *Lactobacillus plantarum* BF001 isolated from processed channel catfish. *J. Food Prot.*, 1994, 57 (8), 698-702.
- [16] Gonzalez B., Glaesker E., Kunji E.R.S., Driessen A.J.M., Suarez J.E., Konings W.N.: Bactericidal mode of action of plantaricin C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62 (8), 2701-2709.
- [17] Gupta A., Tiwari S.K.: Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* LD1 isolated from batter of dosa, a South Indian fermented food. *Probiotics Antimicrob.*, 2014, 6 (2), 73-81.
- [18] Gwiazdowska D., Trojanowska K.: Bakteriocynty – właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa. *Biotechnologia*, 2005, 1 (68), 114-130.
- [19] Jiménez-Díaz R., Ríos-Sánchez R.M., Desmazeaud M., Ruiz-Barba J.L., Piard J.-C.: Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 isolated from a green olive fermentation. *Appl. Environ. Microb.*, 1993, 59 (5), 1416-1424.
- [20] Johnsborg O., Diep D.B., Nes I.F.: Structural analysis of the peptide pheromone receptor PlnB, a histidine protein kinase from *Lactobacillus plantarum*. *J. Bacteriol.*, 2003, 185 (23), 6913-6920.
- [21] Kleerebezem M., Siezen R.J., van Kranenburg R., Molenaar D., Kuipers O.P., Leer R., Turchini R., Peters S.A., Sandbrink H.M., Fiers M.W., Stiekema W., Lankhorst R.M., Bron P.A., Hoffer S.M., Groot M.N., Kerkhoven R., de Vries M., Ursing B., de Vos W.M., Siezen R.J.: Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100 (4), 1990-1995.
- [22] Li P., Gu Q., Zhou Q.: Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* LZ206, a potential probiotic strain with antimicrobial activity against food-borne pathogenic microorganisms. *J. Biotechnol.*, 2016, 238, 52-55.
- [23] Liu H.-W., Mander L.: *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*. Elsevier, Oxford, 2010, pp.205-236.
- [24] Lopetuso L., Giorgio M., Saviano A., Scaldaferrì F., Gasbarrini A., Cammarota G.: Bacteriocins and bacteriophages: Therapeutic weapons for gastrointestinal diseases? *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20 (1), #183. DOI: 10.3390/ijms20010183.

- [25] Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Production of plantaricin NC8 by *Lactobacillus plantarum* NC8 is induced in the presence of different types of gram-positive bacteria. *Arch. Microbiol.*, 2004, 181, 8-16.
- [26] Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Purification and genetic characterization of plantaricin NC8, a novel coculture-inducible two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* NC8. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69 (1), 383-389.
- [27] Maldonado-Barragán A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Knockout of three-component regulatory systems reveals that the apparently constitutive plantaricin-production phenotype shown by *Lactobacillus plantarum* on solid medium is regulated via quorum sensing. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, 130 (1), 35-42.
- [28] Moll G.N., Konings W.N., Driessen A.J.M.: Bacteriocins: Mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1999, 76 (1-4), 185-198.
- [29] Moll G.N., van den Akker E., Hauge H.H., Nissen-Meyer J., Nes I.F., Konings W.N., Driessen A.J.: Complementary and overlapping selectivity of the two-peptide bacteriocins plantaricin EF and JK. *J. Bacteriol.*, 1999, 181 (16), 4848-4852.
- [30] Noonpakdee W., Jumriangrit P., Wittayakom K., Panyim S.: Two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* PMU 33 strain isolated from som-fak, a Thai low salt fermented fish product. *Asia-Pac. J. Mol. Biol.*, 2009, 17 (1), 19-25.
- [31] Parada J.L., Caron C.R., Medeiros A.B.P., Soccol C.R.: Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. *Braz. Arch. Biol. Tech.*, 2007, 50 (3), 521-542.
- [32] Paramithiotis S., Papadelli M., Pardali E., Mataragas M., Drosinos E.H.: Evaluation of plantaricin genes expression during fermentation of *Raphanus sativus* roots with a plantaricin-producing *Lactobacillus plantarum* starter. *Curr. Microbiol.*, 2019, 76 (7), 909-916.
- [33] Rekhif N., Atrih A., Lefebvre G.: Selection and properties of spontaneous mutants of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 resistant to different bacteriocins produced by Lactic Acid Bacteria strains. *Curr. Microbiol.*, 1994, 28 (4), 237-241.
- [34] Remiger A., Eijsink V.G.H., Ehrmann A., Sletten K., Nes I.F., Vogel R.F.: Purification and partial amino acid sequence of plantaricin 1.25 α and 1.25 β , two bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* TMW1.25. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, 86, 1053-1058.
- [35] Rumjuankiat K., Perez R.H., Pilasombut K., Keawsompong S., Zendo T., Sonomoto K., Nitisinprasert S.: Purification and characterization of a novel plantaricin KL-1Y, from *Lactobacillus plantarum* KL-1. *World J. Microb. Biot.* 2015, 31 (6), 983-994.
- [36] Sablon E., Contreras B., Vandamme E.: Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of action, genetics and biosynthesis. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 2000, 68, 21-60.
- [37] Sáenz Y., Rojo-Bezares B., Navarro L., Díez L., Somalo S., Zarazaga M., Ruiz-Larrea F., Torres C.: Genetic diversity of the pln locus among oenological *Lactobacillus plantarum* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, 134, 176-183.
- [38] Song D.-F., Zhu M.-Y., Gu Q.: Purification and characterization of plantaricin ZJ5, a new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ZJ5. *PLoS ONE*, 2014, 9 (8), #e105549. DOI: 10.1371/journal.pone.0105549.
- [39] Todorov S.D.: Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* – production, genetic organization and mode of action. *Braz. J. Microbiol.*, 2009, 40 (2), 209-221.
- [40] Todorov S.D., Holzapfel W., Nero L.A.: Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST8SH and some aspects of its mode of action. *Ann. Microbiol.*, 2016, 66 (3), 949-962.
- [41] Tsapieva A., Duplik N., Suvorov A.: Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. *Beneficial Microbes.*, 2011, 2 (4), 255-261.

- [42] Turner D.L., Brennan L., Meyer H.E., Lohaus C., Siethoff C., Costa H.S., Gonzalez B., Santos H., Suárez J.E.: Solution structure of plantaricin C, a novel lantibiotic. *Eur. J. Biochem.*, 1999, 264, 833-839.
- [43] Van Reenen C.A., Dicks L.M., Chikindas M.L.: Isolation, purification and partial characterization of plantaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, 84 (6), 1131-1137.
- [44] Varish A.V., Khan M.S., Jamal Q.M.S., Alzohairy M.A., Al Karaawi M.A., Siddiqui M.U.: Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. *Int. J. Antimicrobiol.*, 2017, 49 (1), 1-11.
- [45] Wang Y., Qin Y., Xie Q., Zhang Y., Hu J., Li P.: Purification and characterization of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPL-1 isolated from fermented fish. *Front. Microbiol.*, 2018, 9, #2276. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02276.
- [46] Zhang H., Liu L., Hao Y., Zhong S., Liu H., Han T., Xie Y.: Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BM-1 isolated from a traditionally fermented Chinese meat product. *Microbiol. Immunol.*, 2013, 57 (11), 746-755.
- [47] Zhang M., Gao X., Zhang H., Liu H., Jin J., Yang W., Xie Y.: Development and antilisterial activity of PE-based biological preservative films incorporating plantaricin BM-1. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2017, 364(7). DOI: 10.1093/femsle/fnw283.
- [48] Zhang N., Liu J., Li J., Chen C., Zhang H., Wang H., Lu F.: Characteristics and application in food preservatives of *Lactobacillus plantarum* tk9 isolated from naturally fermented congee. *Int. J. Food Eng.*, 2016, 12 (4), 377-384.

PLANTARICINS – BIOSYNTHESIS, MODE OF ACTION AND POTENTIAL IN ENSURING FOOD SAFETY

S u m m a r y

There were characterised the properties, structure and spectrum of activity of plantaricins produced by some *Lactobacillus* strains. There were illustrated their classification, biosynthesis mechanism, models of their action when affecting other bacteria and stability. Plantaricins are quite diverse in terms of the physical-chemical properties, structure and spectrum of antimicrobial activity.

Lactobacillus plantarum strains that are capable of synthesising plantaricins belong to microorganisms most frequently present in the fermented food products and also in beverages and other milk-based products. The structure of molecules, their stability and the mechanisms of action make plantaricins effective in bactericidal activity. Owing to the low resistance of pathogenic organisms to those substances, the plantaricins could be an alternative to many currently used antimicrobial compounds with antimicrobial activity. Plantaricins affect the inhibition of the growth of pathogenic microorganisms and, consequently, they contribute to the improvement of human health. Because of the growing interest in natural products, in the future plantaricins can be applied in various industrial branches. The results of the studies on their use could become a basis to develop effective probiotic preparations, starter cultures to produce fermented food or novel food preservation methods; as a consequence all those measures will contribute to the improvement of human health and life.

Key words: plantaricins, food safety, *Lactobacillus plantarum*, plantaricin operon 

MAGDALENA KOWALCZYK, AGATA ZNAMIROWSKA

PRÓBA ZASTOSOWANIA β -D-GALAKTOZYDAZY DO PRODUKCJI PROBIOTYCZNYCH LODÓW MLECZNYCH

Streszczenie

Celem badań była ocena możliwości zastosowania β -D-galaktozydazy do produkcji lodów mlecznych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12.

Badania obejmowały oznaczenie kwasowości i składu chemicznego mieszanek oraz określenie właściwości fizykochemicznych, sensorycznych i liczby komórek bakterii probiotycznych w lodach mlecznych w czasie zamrażalniczego przechowywania. Średnie wartości pH w mieszance poddanej hydrolizie laktozy i z tradycyjną zawartością laktozy nie różniły się statystycznie istotnie. Nie stwierdzono także różnic pod względem składu chemicznego mieszanek, tj. zawartości białka, cukru i tłuszczu. Produkty uznaje się za probiotyczne, gdy liczba komórek bakterii w nich zawartych wynosi minimum $6 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wyprodukowane mieszanki lodowe spełniały wymagane kryterium, a nawet przekraczały to minimum o ok. $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wartość pH po jednym dniu przechowywania lodów wynosiła od 5,51 w lodach niskolaktozowych do 5,00 w lodach z laktozą. Wraz z wydłużeniem czasu przechowywania z jednego dnia do 28 wartość pH wzrosła o 0,04 jednostki w lodach z laktozą i o 0,13 – w niskolaktozowych. Enzymatyczny rozkład laktozy nie miał wpływu na wzrost liczby komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 podczas fermentacji mieszanki oraz zamrażania i przechowywania lodów. Tylko w przypadku lodów niskolaktozowych wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania do 28 dni skutkowało istotną redukcją liczby komórek *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. Lody z laktożą charakteryzowały się większą puszystością niż lody niskolaktozowe tylko po jednym dniu przechowywania. W produkcji lodów niskolaktozowych należy uwzględnić ich bardziej intensywny smak słodki niż lodów z laktozą. Wskazuje to na możliwość proporcjonalnego zmniejszenia dodatku sacharozy do lodów niskolaktozowych i uzyskanie zbliżonego smaku słodkiego jak w lodach z laktozą.

Słowa kluczowe: lody probiotyczne, *Bifidobacterium* BB-12, inulina, laktaza, β -D-galaktozydaza

Wprowadzenie

Lody są powszechnie cenionym deserem mlecznym dzięki walorom smakowym oraz atrakcyjnej ofercie producentów. W Polsce spożycie lodów przez ostatnie 10 lat

Mgr inż. M. Kowalczyk, dr hab. inż. A. Znamirska, prof. UR, Zakład Technologii Mleczarstwa, Instytut Technologii Żywności i Żywienia, Uniwersytet Rzeszowski, ul. M. Ćwiklińskiej 2d, 35-601 Rzeszów.
Kontakt: magdalenakowalczyk@poczta.fm

wzrosło z ok. 3,5 l do ok. 4 l na osobę rocznie [23] i nadal wzrasta [25]. Ich roczne spożycie np. w Norwegii i we Włoszech wynosi ok. 7 l na osobę, a w USA przekracza 20 l na osobę [27].

Powszechność spożycia lodów sprawia, że mogą służyć jako nośniki bakterii probiotycznych czy błonnika pokarmowego. Do produkcji lodów probiotycznych najczęściej stosowane są szczepy bakterii z rodzajów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* oraz drożdże *Sacharomyces* [7]. Jak dowiedziono, bifidobakterie pozytywnie wpływają na układ pokarmowy i funkcje odpornościowe człowieka [22]. Probiotyki obniżają poziom cholesterolu, hamują wzrost patogenów oraz niszczą komórki nowotworowe [16].

Coraz większy popyt dotyczy nowości w postaci mrożonych jogurtów smakowych oraz lodów jogurtowych. Ten rodzaj deseru, produkowanego na bazie świeżego jogurtu naturalnego, zawierającego żywe kultury bakterii probiotycznych, znajduje uznanie wśród młodych konsumentów, którzy zwracają uwagę na jak najmniejszą wartość energetyczną, ale za to na jak największą liczbę smaków i odpowiednią wartość odżywczą. W miejsce niektórych składników wprowadza się substancje balastowe, istotnie obniżające kaloryczność mieszanki. Należą do nich m.in. inulina zastępująca tłuszcz i nadająca lekko słodki smak oraz oligofruktozy zastępujące cukier. Dodatki te wykazują również aktywność w zakresie stymulacji wzrostu bifidobakterii [2] w przewodzie pokarmowym, a technologicznie zmieniają punkt zamarzania mieszanki i jej podatność na topnienie, ograniczają wzrost kryształów lodu i stabilizują mieszankę w warunkach wahań temperatury [15].

Bakterie probiotyczne fermentują laktozę w mieszance lodowej, dzięki czemu przyczyniają się do łagodzenia nieprzyjemnych objawów u osób z nietolerancją laktozy. Osoby z tym schorzeniem nie wydzielają laktazy lub wytwarzają jej zbyt mało, co powoduje niezdolność trawienia dwucukru laktozy. Przy leczeniu osób z nietolerancją laktozy i hipolaktazją zaleca się przestrzeganie diety niskolaktozowej [13]. W Polsce szacuje się występowanie hipolaktazji u 20 ÷ 37 % populacji. Większość produktów mlecznych, w tym nawet te fermentowane przez bakterie probiotyczne, zawiera laktozę, dlatego producenci branży lodowej będą musieli dostosować się do wymagań stawianych przez konsumentów z nietolerancją laktozy poprzez modyfikację receptur i wprowadzenie na rynek Polski innowacyjnych niskolaktozowych lodów probiotycznych. Enzym laktaza w mieszance lodowej prowadzi do hydrolizy laktozy, jednocześnie wpływa na poprawę smaku, tworzy gładką strukturę i pożądaną płynność lodów. Dodatek enzymu zmniejsza również skutki krystalizacji laktozy odpowiedzialnej za piaszczystość [12].

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania β -D-galaktozydazy do produkcji lodów mlecznych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. Badania obejmowały oznaczenie kwasowości i składu chemicznego mieszanek oraz określenie

właściwości fizykochemicznych, sensorycznych i liczby komórek bakterii probiotycznych w lodach mlecznych w czasie zamrażalniczego przechowywania.

Material i metody badań

Do produkcji lodów zastosowano następujące surowce: mleko krowie pasteryzowane, mikrofiltrowane o zawartości tłuszczu 2 % (SM Mlekoop, Polska), śmietankę UHT o zawartości tłuszczu 36 % (OSM Łowicz, Polska), cukier biały (Polski Cukier, Polska), esencję smakową mango-maracuja zawierającą naturalne i identyczne z naturalnymi aromaty mango i marakuja, kwas cytrynowy E330 i sok mango (Browin, Polska), inulinę (Witpak, Polska), preparat enzymatyczny NOLA™ Fit 5500 (Chr. Hansen, Dania), kultury starterowe *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 (Chr. Hansen, Dania).

Mieszankę lodową wykonywano z: 42,50 % mleka krowiego pasteryzowanego, 37,60 % śmietanki UHT, 10,40 % cukru białego, 3,80 % inuliny. Mieszankę homogenizowano i pasteryzowano (w temp. 85 °C, 30 min), następnie chłodzono do temp. 37 °C i dodawano 1,70 % esencji smakowej mango-maracuja oraz 4 % inoculum *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 (zawierającego 9 log jtk·g⁻¹). Mieszankę lodową dzielono na dwie części i kodowano jako A i B. Do części A dodawano β-D-galaktozydazę NOLA™ Fit 5500 w dawce 0,5 ml/l i mieszano. Obie mieszanki A i B fermentowano w inkubatorze (POL-EKO-Aparatura, Polska) przez 10 h w temp. 37 °C, a następnie chłodzono do temp. 5 °C i kondycjonowano w tej temperaturze przez 12 h. Pobierano próbki do badań właściwości fizykochemicznych i mikrobiologicznych obu mieszanek. Dodatkowo w mieszance A oznaczano zawartość laktozy metodą, którą opisali Pawlos i wsp. [24]. Mieszanki lodowe poddawano mrożeniu przez 40 - 50 min we frezerze (UNOLD AG, Niemcy), a następnie lody pakowano w pojemniki z tworzywa sztucznego o poj. 100 ml i kodowano (A, B). Przechowywano je w warunkach zamrażalniczych w temp. -18 °C przez 28 dni.

W mieszance lodowej oznaczano: skład chemiczny z użyciem aparatu do analizy mleka i przetworów Bentley B-150 (Bentley, USA), zawartość kwasu mlekowego według Jemaa i wsp. [17] oraz mierzono wartość pH za pomocą pH-metru (FiveEasy Mettler Toledo, Szwajcaria). Ponadto oznaczano liczbę żywych komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 metodą płytkową w inoculum po jednym dniu i po 28 dniach od zamrożenia [30].

W tych samych terminach w lodach A i B po roztopieniu w łaźni wodnej oznaczano wartość pH oraz zawartość kwasu mlekowego metodami stosowanymi do mieszanek lodowych [17]. Określano puszystość lodów (wyrażoną w %) jako stosunek objętości powietrza zawartego w zamrożonych lodach do objętości stopionych lodów [2]. Dokonywano również pomiaru topliwości, tj. czasu, który upłynął do momentu spłynięcia pierwszej kropli z lodów [2].

Przeszkolony zespół (10 kobiet i 10 mężczyzn w wieku od 20 do 24 lat) przeprowadzał ocenę sensoryczną lodów po jednym i po 28 dniach przechowywania. Próbki oznaczone trzycyfrowym kodem poddawano ocenie w indywidualnych kabinach.

Oceny dokonywano przy użyciu 9-punktowej skali liniowej ustrukturyzowanej i z określeniami brzegowymi, w której strona lewa oznaczała cechy lodów: niewyczuwalne (wszystkie wyróżniki smaku oraz zapachu), ciemna barwa, natychmiastowa rozpuszczalność, piaszczyste (gładkość), miękkie (twardość) i mało charakterystyczny wygląd. Po prawej stronie skali określono cechy lodów: bardzo intensywne (wszystkie wyróżniki smaku oraz zapachu), jasna barwa, opóźniona rozpuszczalność, bardzo gładkie, twarde, bardzo charakterystyczny wygląd [6].

Lody wykonano w dwóch niezależnych terminach, wybierając losowo do oceny w każdym terminie po 5 próbek z każdej grupy (A i B). Z zebranych wyników obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe w programie Statistica v.13.1 (Stat-Soft, Polska). Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic pomiędzy średnimi weryfikowano testem RIR Tukeya przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wartości pH i skład chemiczny mieszanek lodowych przed fermentacją.

Tabela 1. Skład chemiczny i pH mieszanki lodowej przed fermentacją

Table 1. Chemical composition and pH of ice cream mix prior to fermentation

Wyróżnik Parameter	Mieszanka lodowa niskolaktózowa Low-lactose ice cream mix	Mieszanka lodowa laktozowa Lactose containing ice cream mix
Białko / Protein [%]	0,99 ^a ± 0,02	0,99 ^a ± 0,07
Tłuszcz / Fat [%]	13,86 ^a ± 0,29	13,68 ^a ± 0,76
Cukry / Sugars [%]	18,84 ^a ± 0,13	18,64 ^a ± 0,26
pH	6,18 ^a ± 0,02	6,19 ^a ± 0,04

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 10; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Wartości pH mieszanki poddanej hydrolizie laktozy i z tradycyjną jej zawartością nie różniły się statystycznie istotnie. Nie stwierdzono także różnic w składzie chemicznym mieszanek, tj. zawartości białka, cukru i tłuszczu. W przypadku mieszanek niskolaktózowych ważnych informacji dostarcza określenie zawartości laktozy, która w tych badaniach była mniejsza od 0,01 %.

Według Florowskiej i wsp. [15] parametry jakościowe lodów są nie tylko uzależnione od przebiegu procesu technologicznego lodów, ale przede wszystkim ściśle związane ze składem chemicznym mieszanki używanej do ich produkcji. Mleczne lody tradycyjne zawierają według Bulwarskiej i Florowskiej [7]: 8 ÷ 12 % tłuszczu, 9 ÷ 12 % suchej masy beztłuszczowej mleka, 3 ÷ 4 % białka. W badaniach Clarka [8] standardowe lody mleczne produkowane były z mieszaniny zawierającej: 7 ÷ 15 % tłuszczu, 4 ÷ 5 % białka, 5 ÷ 7 % laktozy, 12 ÷ 16 % cukrów, 0,5 % emulgatorów i aromatów, 28 ÷ 40 % suchej masy, 60 ÷ 72 % wody. W produkcji lodów istotną rolę odgrywa dodatek cukru lub inuliny jako zamiennika cukru w mieszance lodowej. Składnik ten ma ogromne znaczenie w stabilizowaniu piany i emulsji oraz zwiększaniu lepkości [21]. Inulina jest frukto-oligosacharydem zbudowanym z fruktozy i glukozy. Zalicza się ją do prebiotyków. Akbari i wsp. [4] wskazują, że inulina może być też doskonałym zamiennikiem tłuszczu w lodach.

Mieszanki po przeprowadzonej dziesięciogodzinnej fermentacji przez *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 poddawano ocenie jakości, a wyniki przedstawiono w tab. 2. Istotnie wyższą wartość pH oznaczono w mieszance niskolaktosowej w porównaniu z mieszanką z laktozą i są to wyniki zbliżone do wartości pH, które uzyskali w mieszankach lodowych Traugut i Cakmakci [29]. Również w mieszance niskolaktosowej oznaczono istotnie mniej kwasu mlekowego (0,30 g/l) niż w mieszance z laktozą (0,44 g/l). Przeprowadzona fermentacja mlekowa przez szczep *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 przyczyniła się do wytworzenia kwaśnych metabolitów, takich jak: kwas mlekowy, octowy, mrówkowy i etanol i tym samym wpłynęła na intensywność zapachu [16]. Liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w mieszance z laktozą wynosiła $9,40 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, a w mieszance niskolaktosowej – $9,36 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. W ten sposób spełnione zostały wymagania stawiane produktom probiotycznym, tzn. liczba komórek bakterii powinna wynosić minimum $6 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wyprodukowane do badań mieszanki lodowe przekroczyły nawet to minimum o ok. $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$.

Wpływ różnych źródeł węgla na wzrost szczepów *Bifidobacterium* badali Trojanová i wsp. [28]. Udowodnili, że szczepy *Bifidobacterium animalis* wykazują nietypowy wzrost i szybkie wykorzystanie cukrów złożonych, a powolne – cukrów prostych, jakimi są glukoza i galaktoza pochodzące z hydrolizy laktozy. W tym przypadku enzymatyczny rozkład laktozy nie miał istotnego wpływu na wzrost komórek *Bifidobacterium*, ponieważ do mieszanek dodano także inne węglowodany, tj. sacharozę i inulinę, które stanowiły źródło węgla dla tego szczepu. Według Śliwińskiej i Lesiowa [27] ogromne znaczenie dla wzrostu komórek probiotycznych *Bifidobacterium* ma wartość pH. Optymalne pH dla rozwoju tych szczepów mieści się w przedziale 6,0 ÷ 7,0. Uzyskane w badaniach własnych wartości pH są niższe o 0,5 ÷ 1,0 jednostki od optymalnych (tab. 2).

Tabela 2. Kwasowość, pH i liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 po fermentacji mieszanki lodowejTable 2. Acidity, pH and count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 cells in ice cream mix after fermentation

Wyróżnik Parameter	Mieszanka lodowa niskolaktózowa Low-lactose ice cream mix	Mieszanka lodowa laktozowa Lactose containing ice cream mix
pH	5,59 ^b ± 0,04	5,01 ^a ± 0,01
Kwas mlekowy Lactic acid [g/l]	0,30 ^a ± 0,01	0,44 ^b ± 0,01
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> Bb-12 [log jtk·g ⁻¹]	9,36 ^a ± 0,29	9,40 ^a ± 0,35

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

W tab. 3. przedstawiono wyniki określające właściwości fizykochemiczne lodów oraz liczbę komórek *Bifidobacterium* po jednym i dwudziestu ośmiu dniach przechowywania. Pod względem wartości pH lodów należy stwierdzić, że utrzymała się różnica, którą zaobserwowano w mieszankach lodowych po fermentacji. W obu terminach badań w lodach niskolaktózowych wartość pH była wyższa niż w lodach z tradycyjną zawartością laktozy. Po jednym dniu przechowywania lodów wartość pH wynosiła od 5,59 – w niskolaktózowych do 5,00 – w lodach z laktozą. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania do 28 dni wartość pH wzrosła o 0,04 jednostki w lodach z laktozą i o 0,13 – w niskolaktózowych.

W lodach probiotycznych z różnymi substancjami słodzącymi (w tym poliolami) Kalicka i wsp. [18] wykazali wartości pH w zakresie 5,80 ÷ 6,10. W innych badaniach [14] wartość pH lodów mlecznych standardowych wynosiła 7, a wydłużenie czasu do trzydziestu dni przechowywania w temp. -18 °C nie wpłynęło na jego zmianę. Zawartość kwasu mlekowego, podobnie jak w mieszance lodowej po fermentacji, była większa w lodach z laktozą (0,46 g/l) niż w lodach niskolaktózowych (0,35 g/l). Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania nadal utrzymywała się różnica stężenia kwasu mlekowego w lodach, jednak czas przechowywania okazał się czynnikiem nieistotnym. Porównywalne wartości zawartości kwasu mlekowego w przedziale 0,37 ÷ 0,46 g/l zaobserwowali Kalicka i wsp. [18] po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania lodów w temp. -22 °C.

Niezwykle ważną cechą jakości lodów stanowi puszystość, czyli stopień ich napowietrzenia, który odpowiada za uczucie zimna podczas spożywania lodów. Po jednym dniu przechowywania zaobserwowano istotne różnice pomiędzy puszystością lodów, w których przeprowadzono hydrolizę laktozy (29,05 %) i lodów z laktozą (35,19 %). Alkin i wsp. [5] uzyskali puszystość lodów w przedziale 25,55 ÷ 30,60 %, natomiast Kalicka i wsp. [18] osiągnęli puszystość na poziomie 49 % w lodach z róż-

nyymi substancjami słodzącymi. W badaniach własnych stwierdzono, że czas przechowywania istotnie wpłynął na puszystość lodów (tab. 3). W lodach niskolaktózowych stopień napowietrzenia po 28 dniach był niższy o 1,04 % w porównaniu z pierwszym dniem. Natomiast w lodach z laktozą zmniejszył się, aż o 6,61 %.

Tabela 3. Właściwości fizykochemiczne lodów i liczba komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12

Table 3. Physical-chemical properties of ice cream and count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 cells

Wyróżnik Parameter	Czas przechowywania Storage time [dni / days]	Lody niskolaktózowe Low lactose ice cream	Lody z laktozą Ice cream with lactose
pH	1	5,51 ^{bA} ± 0,11	5,00 ^{aA} ± 0,05
	28	5,64 ^{bA} ± 0,03	5,04 ^{aA} ± 0,04
Kwas mlekowy Lactic acid [g/l]	1	0,35 ^{aA} ± 0,02	0,46 ^{bA} ± 0,01
	28	0,36 ^{aA} ± 0,01	0,46 ^{bA} ± 0,01
Puszystość Fluffiness [%]	1	29,05 ^{aA} ± 1,36	35,19 ^{bB} ± 1,05
	28	28,09 ^{aA} ± 2,62	28,58 ^{aA} ± 1,91
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> Bb-12 [log jtk·g ⁻¹]	1	9,14 ^{aB} ± 0,37	9,16 ^{aA} ± 0,17
	28	8,72 ^{aA} ± 0,58	9,10 ^{bA} ± 0,54
Czas pierwszej kropli First drop time [min]	1	30 ^{aA} ± 0,5	32 ^{bB} ± 0,5
	28	18 ^{aA} ± 1,0	20 ^{bA} ± 0,5

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 10; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B – wartości średnie dla danego parametru w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values of a given parameter as shown in columns denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Po jednym dniu przechowywania liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w lodach niskolaktózowych i z tradycyjną zawartością laktozy obniżyła się tylko o 0,22 ÷ 0,24 log jtk·g⁻¹ w porównaniu z mieszankami lodowymi po fermentacji. Oznacza to, że proces mrożenia mieszanki lodowej nie powodował istotnej redukcji populacji bakterii, co potwierdza wyniki badań lodów z udziałem bakterii probiotycznych (*Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12) i dodatkiem oligofruktozy podczas przechowywania zamrażalniczego, które przeprowadzili Akalin i wsp. [2].

Po 28 dniach przechowywania nastąpiła redukcja liczby komórek bakterii w lodach niskolaktózowych o 0,42 log jtk·g⁻¹, natomiast w tradycyjnych lodach z laktozą – o 0,06 log jtk·g⁻¹ w porównaniu z pierwszym dniem przechowywania. Tylko w przy-

padku lodów niskolaktozowych wydłużenie czasu przechowywania istotnie obniżyło liczbę komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. Redukcję populacji żywych komórek probiotycznych *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w ciągu całego okresu przechowywania wykazali Kalicka i wsp. [18]. Natomiast szczepy bakterii probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* i *Lactobacillus casei* w lodach badanych przez Criscio i wsp. [10] charakteryzowały się dużą przeżywalnością w obecności inuliny podczas przechowywania w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez szesnaście tygodni. Podobnie w badaniach Szydłowskiej i Kołożyn-Krajewskiej [26] dodatek inuliny do sorbetów pozytywnie wpłynął na przeżywalność *Lactobacillus rhamnosus*.

Szybkość topnienia określa się jako czas spłynięcia pierwszej kropli lodów w temp. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po jednym dniu czas spłynięcia pierwszej kropli lodów niskolaktozowych był istotnie krótszy (30 min) niż lodów z laktozą (32 min). Istotną różnicę wykazano jednak po 28 dniach przechowywania, gdyż szybkość topnienia lodów niskolaktozowych skróciła się do 18 min, a lodów laktozowych – do 20 min (tab. 3). W obu przypadkach różnica wynosiła 12 min. Wartości te są zbliżone do wartości przedstawionych przez Lomolino i wsp. [20] w odniesieniu do lodów wegańskich – pierwsza kropla spłynęła po 20 min, ale z lodów tradycyjnych dopiero po 45 min.

Wyniki oceny sensorycznej lodów po jednym i dwudziestu ośmiu dniach przechowywania przedstawiono w tab. 4. Według oceniających lody z tradycyjną zawartością laktozy oraz lody niskolaktozowe charakteryzowały się zbliżonym wyglądem, twardością, barwą, rozpląwalnością, oraz wyróżnikami smaku i zapachu. Enzymatyczny rozkład laktozy przyczynił się do zwiększenia intensywności smaku słodkiego w lodach niskolaktozowych, zarówno po jednym, jak i po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania. Również w lodach niskolaktozowych oceniający wskazali na intensywniejszy smak i zapach dodatku mango – maracuja wraz z wydłużeniem czasu przechowywania do dwudziestu ośmiu dni. W lodach nie stwierdzono smaku i zapachu obcego. W lodach niskolaktozowych i z laktozą czas przechowywania statystycznie istotnie kształtował ich gładkość. Gładszą konsystencją charakteryzowały się lody niskolaktozowe oraz z tradycyjną zawartością laktozy po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania w porównaniu z lodami po jednym dniu przechowywania.

Rezultaty badań Adapa i wsp. [1] wskazują, że zawartość tłuszczu istotnie wpływa na temperaturę topnienia, gładkość, zwiększa lepkość oraz korzystnie kształtuje puszystość. Na puszystość ma wpływ zwłaszcza stosunek zawartości tłuszczu i białka. Jak podają Koxholt i wsp. [19], szybkość topnienia lodów zależy od wielkości kuleczek tłuszczowych oraz wielkości aglomeratu tłuszczu zawartego w lodach. Akbari i wsp. [3] podkreślają, że tłuszcz pozytywnie wpływa na postrzeganie smaku i zapachu lodów. Pełnotłuste lody w badaniach Danesh i wsp. [11] również zostały wyżej ocenione przez panel oceniający za smak i kremowość. Florowska i wsp. [15] podają, że

inulina poprzez zwiększenie gęstości mieszanki lodowej wpływa negatywnie na napowietrzenie lodów, zwiększając tym samym ich twardość.

Tabela 4. Ocena sensoryczna lodów podczas przechowywania
Table 4. The sensory evaluation of ice cream during storing

Wyróżnik Parametr	Czas przechowywania Storage time [dni / days]	Lody niskolaktosowe Low lactose ice cream	Lody z laktozą Ice cream with lactose
Wygląd Appearance	1	7,33 ^{aA} ± 2,12	7,70 ^{aA} ± 2,11
	28	7,56 ^{aA} ± 0,73	7,90 ^{aA} ± 1,10
Twardość Hardness	1	5,67 ^{aA} ± 1,94	6,40 ^{aA} ± 2,12
	28	5,00 ^{aA} ± 1,12	5,90 ^{aA} ± 1,28
Barwa Colour	1	7,56 ^{aA} ± 1,94	7,50 ^{aA} ± 1,12
	28	8,11 ^{aA} ± 0,93	7,70 ^{aA} ± 0,82
Gładkość Smoothness	1	4,00 ^{aA} ± 1,00	4,70 ^{aA} ± 1,50
	28	6,67 ^{aB} ± 1,94	6,10 ^{aB} ± 1,13
Rozpływalność Melting	1	4,22 ^{aA} ± 1,99	4,70 ^{aA} ± 1,98
	28	3,33 ^{aA} ± 1,50	3,70 ^{aA} ± 1,83
Smak słodki Sweet taste	1	7,33 ^{bA} ± 0,66	6,30 ^{aA} ± 0,89
	28	7,11 ^{bA} ± 0,28	6,50 ^{aA} ± 0,75
Smak dodatków Taste of additives	1	6,89 ^{aA} ± 1,09	7,00 ^{aA} ± 1,05
	28	7,67 ^{aA} ± 1,00	7,20 ^{aA} ± 0,92
Smak obcy Off taste	1	1,11 ^{aA} ± 0,33	1,10 ^{aA} ± 0,32
	28	1,00 ^{aA} ± 0,00	1,10 ^{aA} ± 0,32
Zapach dodatków Odour of additives	1	4,33 ^{aA} ± 1,87	4,50 ^{aA} ± 1,90
	28	5,11 ^{aA} ± 1,09	4,10 ^{aA} ± 1,23
Zapach obcy Off odour	1	1,11 ^{aA} ± 0,33	1,00 ^{aA} ± 0,00
	28	1,00 ^{aA} ± 0,00	1,00 ^{aA} ± 0,00

Objaśnienia / Explanatory notes:

n = 40. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Wnioski

1. Mleczne lody niskolaktosowe są produktem odpowiadającym na oczekiwanie konsumentów z nietolerancją laktozy i hipolaktazją. Zwiększenie asortymentu lodów o produkt niskolaktosowy z inuliną i bakteriami probiotycznymi przyczyni się do zwiększenia konsumpcji lodów, które można zaliczyć do żywności funkcjonalnej.

2. W procesie produkcji mlecznych lodów niskolaktosowych enzymatyczny rozkład laktozy nie ma wpływu na wzrost liczby komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 podczas fermentacji mieszanki oraz zamrażania i przechowywania lodów. Tylko w przypadku lodów niskolaktosowych wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania do 28 dni skutkuje istotną redukcją liczby komórek *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12.
3. Lody z laktozą charakteryzuje większa puszystość niż lody niskolaktosowe tylko po jednym dniu przechowywania. Po 28 dniach puszystość lodów niskolaktosowych i z laktozą jest zbliżona.
4. W przypadku lodów niskolaktosowych należy uwzględnić ich intensywniejszy smak słodki niż lodów z laktozą. Można zatem proporcjonalnie zmniejszyć dodatek sacharozy do lodów niskolaktosowych i uzyskać zbliżony smak słodki jak w lodach z laktozą. Ponadto lody niskolaktosowe charakteryzują się szybszą rozpuszczalnością w ustach, potwierdzonym szybszym topnieniem i krótszym czasem spłynięcia pierwszej kropli w obu terminach.
5. Do produkcji lodów mlecznych niskolaktosowych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 można stosować β -D-galaktozydazę, która skutecznie hydrolizuje laktozę.

Literatura

- [1] Adapa S., Dingeldein H., Schmidt K.A., Herald T.J.: Rheological properties of ice cream mixes and frozen ice creams containing fat and fat replacers. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83 (10), 2224-2229.
- [2] Akalin A.S., Erisir D.: Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *J. Food Sci.*, 2008, 73 (4), 184-188.
- [3] Akbari M., Eskandari M.H., Davoudi Z.: Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2019, 86, 34-40.
- [4] Akbari M., Eskandari M.H., Niakosari M., Bedeltavana M.: The effect of inulin on the physicochemical properties and sensory attributes of low-fat ice cream. *Int. Dairy J.*, 2016, 57, 52-55.
- [5] Alkin A.S., Kesencas H., Dinkci N., Unal G., Ozer E., Kinik O.: Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. *J. Dairy Sci.*, 2018, 101 (1), 37-46.
- [6] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [7] Bulwarska M., Florowska A.: Lody z dodatkami prozdrowotnymi. *Przem. Spoż., Handel Wewn.*, 2011, 65 (9), 22-24.
- [8] Clarke Ch.: *The Science of Ice Cream*. RSC Publishing, London, UK, 2015.
- [9] Codex Alimentarius: Milk and milk products. WHO and FAO, Rome 2011, pp. 6-7.
- [10] Criscio T.D., Fratianni A., Mignogna R., Cinquanta L., Coppola R., Sorrentino E., Panfili G.: Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. *J. Dairy Sci.*, 2010, 93, 4555-4564.

- [11] Danesh E., Goudarzi M., Jooyandeh H.: Short communication. Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *J. Dairy Sci.*, 2017, 7, 5206-5211.
- [12] Dec B.: Technologia produkcji nisko- i bezlaktozowych produktów mleczarskich. *Przegl. Mlecz.*, 2011, 5 (11), 8-14.
- [13] Deng Y., Misselwitz B., Dai N., Fox M.: Lactose intolerance in adults: Biological mechanism and dietary management. *Nutrients*, 2015, 7 (9), 8020-8035.
- [14] Fiol C., Prado D., Romero C., Laburu N., Mora M., Inaki Alava J.: Introduction of a new family of ice creams. *Int. J. Gastron. Food Sci.*, 2017, 7, 5-10.
- [15] Florowska A., Wójcik E., Florowski T., Dłużewska E.: Wpływ dodatku preparatów błonnikowych na wybrane wyróżniki jakości lodów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2013, 574, 11-18.
- [16] Jędrzejczak-Krzepitowska M., Bielecki S.: Bifidobakterie i stymulujące ich wzrost fruktany typu inuliny. *Postępy Biochemii*, 2011, 57 (4), 392-400.
- [17] Jemaa M.B., Falleh H., Neves M.A., Isoda H., Nakajima M., Ksouri R.: Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. *Food Chem.*, 2017, 217, 726-734.
- [18] Kalicka D., Znamirska A., Pawlos M., Buniowska M., Szajnar K.: Physical and sensory characteristics and probiotic survival in ice cream sweetened with various polyols. *Int. J. Dairy Technol.*, 2019, 72 (3), 456-465.
- [19] Koxholt M.M.R., Eisenmann B., Hinrichs J.: Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *J. Dairy Sci.*, 2001, 84 (1), 31-37.
- [20] Lomolino G., Zannoni S., Zabra A., Da Lio M., De Iseppi A.: Ice recrystallisation and melting in ice cream with different proteins levels and subjected to thermal fluctuation. *Int. Dairy J.*, 2020, 100, 104-557.
- [21] Meyer D., Bayarri S., Tárrega A., Costell E.: Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocoll.*, 2011, 25, 1881-1890.
- [22] O'Callaghan A., van Sinderen D.: Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Front. Microbiol.*, 2016, 7 (925), 1-23.
- [23] Palka A.: Zmiany w preferencjach konsumentów na rynku lodów. *Przem. Spoż., Handel Wewn.*, 2015, 2 (355), 308-319.
- [24] Pawlos M., Znamirska A., Kluz M., Szajnar K., Kowalczyk M.: Low-lactose goat fermented milks with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *J. Microbiol., Biotechnol. Food Sci.*, 2020, 9, (4), 751-755.
- [25] Woźniak B.: Dyrektor generalny PPL Koral: Konsumpcja lodów będzie mocno rosła w kolejnych latach. [on line]. [portalspozywczy.pl](https://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/dyrektor-generalny-ppl-koral-konsumpcja-lodow-bedzie-mocno-rosla-w-kolejnych-latach,165140.html). Dostęp w Internecie [19.11.2019]: <https://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/dyrektor-generalny-ppl-koral-konsumpcja-lodow-bedzie-mocno-rosla-w-kolejnych-latach,165140.html>
- [26] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Development of potentially probiotic and synbiotic pumpkin frozen desserts. *CYTA J. Food*, 2019, 17 (1), 251-259.
- [27] Śliwińska A., Lesiów T.: Lody jako żywność funkcjonalna – badania konsumenckie. *Nauki Inż. Technol.*, 2013, 1 (8), 65-76.
- [28] Trojanová I., Vlková E., Rada V., Marounek M.: Different utilization of glucose and raffinose in *Bifidobacterium breve* and *Bifidobacterium animalis*. *Folia Microbiol.*, 2006, 51 (4), 320-324.
- [29] Turgut T.I., Cakmakci S.: Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. *Int. J. Dairy Technol.*, 2009, 62 (3), 444-455.
- [30] Znamirska A., Buniowska M., Szajnar K.: Zastosowanie koncentratu i izolatu białek serwatkowych w produkcji mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2019, 4 (121), 77-88.

AN ATTEMPT TO USE β -D-GALACTOSIDASE IN THE PRODUCTION OF PROBIOTIC MILK ICE CREAM

Summary

The objective of the research study was to assess the possibility of using β -D-galactosidase in the production of milk ice cream with inulin and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12.

The research included the determination of the acidity and chemical composition of mixes, the physical-chemical and sensory properties and the count of bacteria in milk ice cream during frozen storage. There were no statistically significant differences between the pH values of mixes with hydrolysed lactose and with traditional content of lactose. Nor were any differences found between the chemical compositions of those mixes, i.e. between the contents of protein, sugar and fat therein. Products are regarded as probiotic provided the count of bacterial cells therein is $6 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ at a minimum. The ice cream mixes produced met this criterion and they even exceeded this minimum by about $3 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$. After the first day of storing ice cream, the pH was from 5.51 in low-lactose ice cream to 5.00 in ice cream with lactose. Extending the storage period from 1 to 28 days caused the pH value to increase by 0.04 units in ice cream with lactose and by 0.13 units in low-lactose ice cream. The enzymatic breakdown of lactose did not affect the increase in the number of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 during fermentation of the mixes and during freezing and storing ice cream. Only in the case of low-lactose ice cream, extending the freezing storage time to 28 days resulted in a significant reduction in the count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. Only after the first day of storage, the lactose containing ice cream was characterised by a better fluffiness than the low-lactose ice cream. When producing the low-lactose ice cream, there should be considered their more sweet taste compared to the lactose containing ice cream. This suggests it could be possible to proportionally reduce the amount of sucrose to be added to low-lactose ice cream while obtaining a similar sweet taste as that of the ice cream with lactose.

Key words: probiotic ice cream, *Bifidobacterium* BB-12, inulin, lactase, β -D-galactosidase 

KAROLINA PYCIA, IRENEUSZ KAPUSTA

**WPLYW STOPNIA DOJRZAŁOŚCI ORAZ WIELKOŚCI DODATKU
ORZECHÓW LASKOWYCH I WŁOSKICH NA WŁAŚCIWOŚCI
FIZYKOCHEMICZNE I PRZECIWUTLENIAJĄCE WZBOGACONEGO
CHLEBA PSZENNEGO**

Streszczenie

Przykładem produktu, który można wzbogacać w składniki bioaktywne, jest chleb pszenny. Celem pracy była ocena wpływu wzbogacania chleba pszennego orzechami laskowymi i włoskimi o różnym stopniu dojrzałości. Orzechy laskowe i włoskie zostały zebrane w lipcu oraz we wrześniu. Udział zmielonych orzechów w mieszance wypiekowej wyniósł 2 % oraz 7 % w stosunku do masy mąki. Próbę kontrolną stanowił chleb niewzbogacony. Chleb wykonano metodą bezpośrednią z użyciem drożdży. W badaniach obliczono wydajność ciasta, upiek, stratę wypiekową całkowitą i wydajność pieczywa. Oznaczono objętość chleba, objętość właściwą, porowatość jego miękiszu, barwę w systemie CIE L*a*b* oraz parametry tekstury. Określono także właściwości przeciwutleniające chleba (metodą ABTS⁺, DPPH[•] oraz FRAP), ogólną zawartość związków polifenolowych oraz profil i zawartość polifenoli metodą chromatografii UPLC-PDA-ESI-MS. Wyniki poddano trójczynnikowej analizie wariancji.

Stwierdzono, że wzbogacenie chleba orzechami o różnym stopniu dojrzałości wpłynęło na jego właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające. Wydajność ciasta i wydajność chleba były większe przy większym dodatku orzechów. Największą objętością charakteryzowała się próba kontrolna, a wzbogacenie chleba orzechami skutkowało zmniejszeniem jego objętości. Najmniejszą objętością charakteryzował się chleb wzbogacony niedojrzałymi orzechami włoskimi zebranymi w lipcu. Miękiśz tego chleba charakteryzował się najmniejszą wartością parametru L* oraz był najtwardszy. Rodzaj orzechów oraz ich stopień dojrzałości wpływały istotnie na właściwości przeciwutleniające i zawartość polifenoli w chlebie. Wartości tych parametrów zmniejszały się w miarę zwiększania dojrzałości dodawanych orzechów, a chleby wzbogacone orzechami włoskimi odznaczały się istotnie większą zawartością polifenoli ogółem w porównaniu z próbą kontrolną oraz chlebami wzbogaconymi orzechami laskowymi. W profilu polifenoli badanych chlebów zidentyfikowano 12 związków.

Słowa kluczowe: chleb pszenny, orzechy, stopień dojrzałości, wzbogacanie, polifenole

Wprowadzenie

Asortyment wyrobów piekarskich, w tym chleba, jest obecnie bardzo urozmaicony. Wiąże się to z zastosowaniem zmodyfikowanych receptur, wdrażaniem nowych rozwiązań w zakresie technologii produkcji czy też ze zmieniającymi się preferencjami konsumentów. Współcześni konsumenci świadomi związku pomiędzy jakością spożywanej żywności a własnym zdrowiem poszukują chleba, który będzie charakteryzował się nie tylko świeżością i smakowitością, ale również walorami prozdrowotnymi. Pieczywo jako element codziennej diety większości konsumentów może zatem pełnić funkcję nośnika składników odżywczych, ale także substancji bioaktywnych, kształtujących profil prozdrowotny. Takie pieczywo można zaliczyć do kategorii żywności funkcjonalnej [11]. Wartość odżywcza pieczywa podstawowego, powstałego na bazie mąki jasnej, niskowyciągowej jest zubożona z powodu deficytu błonnika pokarmowego, witamin, składników mineralnych oraz substancji bioaktywnych w mące. Aby zwiększyć wartość odżywczą takiego pieczywa, często część mąki pszennej zastępuje się dodatkami roślinnymi lub zwierzęcymi. W literaturze przedmiotu publikowane są dane dotyczące wpływu fortyfikacji chleba nasionami roślin oleistych [14], orzechami [1], mąką z nasion roślin strączkowych [19], serwatką [13] czy olejem i wytlókami z orzechów włoskich [26]. W badaniach własnych wzbogacano także chleb zmielonymi orzechami laskowymi i włoskimi, co wpłynęło bardzo korzystnie na walory prozdrowotne takiego pieczywa. Jak jednak wykazali Pycia i wsp. [24, 25], potencjał przeciwutleniający orzechów zależy od ich rodzaju oraz stopnia dojrzałości. Największym potencjałem przeciwutleniającym wynikającym z zawartości polifenoli ogółem charakteryzują się niedojrzałe orzechy, a właściwości te osłabiają się w miarę nabywania dojrzałości. Ponadto Pycia i wsp. [24, 25] wykazali, że niedojrzałe orzechy włoskie charakteryzują się znacznie większym potencjałem przeciwutleniającym w porównaniu z niedojrzałymi orzechami laskowymi. Interesującym zagadnieniem jest także wpływ fortyfikacji niedojrzałymi orzechami na jakość chleba pszennego.

Celem pracy była ocena wpływu rodzaju orzechów, stopnia ich dojrzałości oraz dawki orzechów na właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające wzbogaconego chleba pszennego.

Material i metody badań

Materiałem badanym były chleby pszenne wzbogacone orzechami laskowymi (L) i orzechami włoskimi (W), różniącymi się stopniem dojrzałości. W badaniach użyto orzechów laskowych odmiany Barceloński (Przesławice, małopolskie, Polska) oraz orzechów włoskich odmiany 'Resovia' (Urzejowice, podkarpackie, Polska) zebranych w miesiącu lipcu (L7, W7) oraz we wrześniu (L9, W9) 2017 roku. Do momentu analizy próbki przechowywano w warunkach zamrażalniczych (-18 °C). Następnie orzechy

wysuszone w liofilizatorze (Alpha model 1-2 LDplus, Donserv, Polska), usunięto części niejadalne oraz zmielono. Do wypieku chleba zastosowano mąkę pszenną typu 550 o wodochłonności 61 % oraz zawartości suchej masy 13,0 %. W analizowanych układach mąkę pszenną zastępowano niedojrzałymi orzechami laskowymi lub włoskimi w ilości 2 i 7 % w stosunku do naważki mąki. Próbę kontrolną stanowił chleb pszenny wykonany tylko na bazie mąki pszennej (0 %). Układy doświadczalne powtórzono trzykrotnie. Pieczywo wypiekano z ciasta prowadzonego metodą bezpośrednią z zastosowaniem drożdży [10, 23].

Ciasto przygotowywano z mąki pszennej, drożdży piekarskich (Lallemand, Polska) – 3 % w stosunku do masy mąki, chlorku sodu – 1 % w stosunku do masy mąki, wody oraz zmielonych niedojrzałych orzechów laskowych lub włoskich, przy użyciu miesiarki laboratoryjnej R4 (Mesko-AGD, Poland). Po wymieszeniu wszystkich składników ciasto poddawano fermentacji w ciągu 60 min, w temp. 30 °C, z jednoczesnym przebicciem po upływie 30 min. Następnie uformowane kęsy o masie 250 ± 1 g umieszczano w foremkach i fermentowano do optymalnego rozrostu kęsów. Wypiek chleba prowadzono w elektrycznym piecu modułowym (Sveba Dahlen, Szwecja) w temp. 230 °C, przez 30 min [23, 31].

Po upływie 24 h od wypieku określano parametry wypieku laboratoryjnego pieczywa, takie jak wydajność ciasta [%], wydajność pieczywa [%], całkowita strata piecowa [%] [22, 23, 31]. Ponadto mierzono objętość pieczywa [cm^3] aparatem Sa-Way, przy użyciu sypkich nasion prosa [23, 31]. Obliczano także objętość właściwą, czyli objętość pieczywa na 1g użytej mąki [cm^3/g] [17] oraz określano porowatość pieczywa przy użyciu skali Dallmana [5]. Oznaczenia wykonano w dwóch powtórzeniach. Pomiar barwy miększu chleba wykonywano przy użyciu spektrofotometru (HunterLab, Stany Zjednoczone). Pomiary prowadzono w systemie CIE Lab (L^* , a^* , b^*) w odbiciu: geometria pomiarowa $d/8^\circ$, iluminant D65, zakres $400 \div 700$ nm, detektor odchyłony 10° , szczelina pomiaru 25 mm [23]. Obliczano także parametr obrazujący różnicę barwy ΔE [15]. Pomiary przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Analizę profilu teksturometrycznego (TPA) prowadzono przy użyciu teksturometru EZ Test EZ-LX (Shimadzu, Japonia) obsługiwanego przez oprogramowanie Trapezium X Texture Pl. Próbkę miększu ze środkowej części chleba w kształcie walca ($h = 27$ mm, $d = 32$ mm, $V = 22$ cm^3) ściskano dwukrotnie wzdłuż jego osi dyskiem ze stali nierdzewnej o średnicy 25 mm z prędkością 50 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ do momentu uzyskania przez nią 50-procentowego odkształcenia. Określano takie parametry tekstury miększu chleba, jak: twardość [N], spoistość [-] i żujność [N]. Pomiary wykonano w czterech powtórzeniach.

Aktywność przeciwutleniającą badanego chleba oznaczano względem kationorodnika ABTS^{•+} [27], rodnika DPPH[•] [34] oraz metodą FRAP [3]. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano metodą spektrofotometryczną z użyciem odczynnika Folina-

Ciocalteu'a [7]. Analizowany chleb suszono przy użyciu liofilizatora ALPHA 1-2 LD plus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Niemcy), który następnie ekstrahowano roztworem metanolu o stężeniu 80 %. Proces ekstrakcji prowadzono w łaźni ultradźwiękowej (Polsonic, Polska) przez 30 min, w temp. 25 °C. Aktywność przeciwutleniającą oznaczoną metodami ABTS^{•+}, DPPH[•] i FRAP wyrażano w µmolach TE/100 g s.m. (*Trolox Equivalent* – analog α-tokoferolu). Z kolei zawartość związków polifenolowych ogółem wyrażano w mg GAE/100 g s.m. (GAE – ekwiwalent kwasu galusowego). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analizę profilu związków polifenolowych wykonywano metodą ultrasprawną chromatografię cieczową sprzężoną z detektorem mas (UPLC-PDA-ESI-MS) [12, 24, 25] przy użyciu ultrasprawnego chromatografu cieczowego Aquity (Waters, Micro-mass, Manchester, Wielka Brytania) sprzężonego z detektorem o matrycy diodowej (PDA), a także tandemowym detektorem mas w postaci podwójnego kwadrupola (TQD). Rozdział chromatograficzny prowadzono w kolumnie C18 BEH (50 °C) o wymiarach 100 mm × 2,1 mm z ziarnami o wielkości rzędu 1,7 µm (Waters). Jako eluent stosowano 0,1-procentowy wodny roztwór kwasu mrówkowego (eluent A) oraz 40-procentowy wodny roztwór acetonitrylu (eluent B). Objętość nastrzyku wykonywanego przez autosampler wynosiła 5 µl. Identyfikacji związków polifenolowych dokonano na podstawie analizy charakterystycznych widm maksimów absorpcji promieniowania UV-Vis oraz na podstawie stosunku masy do ładunku (m/z) otrzymanego dla pików pseudomolekularnych zarejestrowanych w trybie jonów ujemnych. Analizę ilościową prowadzono na podstawie krzywych wzorcowych. Do rejestracji oraz analizy danych używano oprogramowania Mass-Lynx 4.1 (Waters). Analizę wykonano w trzech powtórzeniach.

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej obejmującej trójczynnikową analizę wariancji (ANOVA). W celu określenia istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano test Duncana ($p < 0,05$). Dodatkowo pomiędzy parametrami charakteryzującymi właściwości orzechów obliczono wartości współczynników korelacji liniowej Pearsona, których istotność testowano przy $p < 0,01$. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica 13.3 (StatSoft, Polska).

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wartości parametrów wypieku laboratoryjnego chleba wzbogaconego orzechami laskowymi i włoskimi o różnym stopniu dojrzałości. Stwierdzono, że dodatek do mąki pszennej zmielonych orzechów laskowych i włoskich o różnym stopniu dojrzałości wpłynął na zwiększenie wydajności ciasta. Średnia wydajność ciasta z 2- i 7-procentowym dodatkiem orzechów była większa odpowiednio o 2 % oraz 7 % od wydajności ciasta kontrolnego. Na wartość tego parametru wpływał rodzaj orzechów, stopień ich dojrzałości oraz poziom wzbogacenia ($p < 0,01$). Jedno-

cześniej nie wykazano statystycznie istotnego wpływu rodzaju orzechów, stopnia dojrzałości, poziomu wzbogacenia oraz interakcji tych czynników na wartość straty piecowej. Na wartość straty piecowej całkowitej wpływał natomiast statystycznie istotnie stopień dojrzałości orzechów. Chleby wzbogacone orzechami zebranymi we wrześniu (L9, W9) charakteryzowały się bowiem większą wartością straty piecowej całkowitej. Z kolei wydajność chleba zależała statystycznie istotnie od rodzaju orzechów, stopnia dojrzałości, poziomu wzbogacenia, a interakcje tych czynników były nieistotne (tab. 1). Stwierdzono, że wzbogacanie chlebów orzechami wpłynęło na zwiększenie ich wydajności, przy czym wartość tego parametru była większa w przypadku chlebów wzbogaconych orzechami niedojrzałymi, czyli pozyskanymi w lipcu.

Tabela 1. Parametry wypieku laboratoryjnego badanych chlebów

Table 1. Parameters of laboratory baking of tested breads

Próba Sample	Wydajność ciasta Dough yield [%]	Strata piecowa (upiek) Oven loss [%]	Strata piecowa całkowita Total oven loss [%]	Wydajność chleba Bread yield [%]
Kontrolna Control	165,51 ^a ± 1,12	10,87 ^a ± 0,34	17,06 ^{bc} ± 0,36	144,57 ^{ab} ± 0,63
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 2 %				
L7	168,82 ^b ± 1,34	10,73 ^a ± 0,68	15,86 ^{abc} ± 0,19	146,66 ^{abc} ± 0,34
L9	168,70 ^b ± 1,17	11,21 ^a ± 1,20	16,67 ^{abc} ± 0,48	145,24 ^{abc} ± 0,83
W7	169,20 ^c ± 1,18	9,46 ^a ± 1,45	14,87 ^a ± 0,92	148,37 ^c ± 1,60
W9	168,92 ^b ± 1,34	11,19 ^a ± 1,63	17,11 ^{bc} ± 1,30	144,48 ^{ab} ± 2,26
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 7 %				
L7	177,17 ^d ± 1,25	9,92 ^a ± 1,09	15,33 ^{ab} ± 0,85	147,58 ^{bc} ± 1,47
L9	177,80 ^d ± 0,95	10,62 ^a ± 0,23	16,57 ^{abc} ± 0,24	145,41 ^{abc} ± 0,42
W7	177,65 ^d ± 1,31	10,64 ^a ± 1,45	15,01 ^a ± 1,03	148,13 ^c ± 1,80
W9	177,97 ^d ± 0,87	11,47 ^a ± 0,91	17,70 ^c ± 0,41	143,44 ^a ± 0,72
Trójczynnikowa ANOVA-p / Three-way ANOVA-p				
Czynnik 1 / Factor 1	p < 0,001	0,911	0,870	p < 0,001
Czynnik 2 / Factor 2	p < 0,001	0,146	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 3 / Factor 3	p < 0,001	0,978	0,947	p < 0,001
Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3	0,876	0,638	0,984	0,985

Objaśnienia / Explanatory notes:

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ / Mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0,05$; Czynnik 1 / Factor 1 – rodzaj orzechów / type of nuts; Czynnik 2 / Factor 2 – stopień dojrzałości / maturity stage; Czynnik 3 / Factor 3 – poziom wzbogacenia / enrichment level; Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3 – interakcje pomiędzy rodzajem orzechów, stopniem dojrzałości a poziomem wzbogacenia / interactions among type of nut, maturity stage and level of enrichment.

Wykazano statystycznie istotny wpływ rodzaju orzechów, stopnia ich dojrzałości oraz poziomu wzbogacenia na objętość chleba oraz związaną z nią objętość właściwą.

Największą objętością charakteryzował się chleb kontrolny (487 cm^3), a objętość chleba zmniejszała się w miarę zwiększania poziomu wzbogacania. Średnia objętość chleba z 2-procentowym dodatkiem orzechów wynosiła 419 cm^3 i była o ok. 16 % większa od średniej objętości chlebów wzbogaconych orzechami na poziomie 7 %. Równie interesujący jest także wpływ rodzaju orzechów oraz stopnia ich dojrzałości, gdyż chleby wzbogacone L7 i W7 charakteryzowały się statystycznie istotnie mniejszą objętością w porównaniu z chlebami wzbogaconymi orzechami L9 i W9. Po uwzględnieniu rodzaju orzechów w ramach tego samego stopnia dojrzałości należy zauważyć, że chleb wzbogacony orzechami (2 %) L i W zebranych w lipcu charakteryzował się mniejszą objętością odpowiednio o 70 cm^3 i 144 cm^3 w stosunku do próby kontrolnej. Spośród badanych prób najmniejszą objętością charakteryzował się natomiast chleb wzbogacony na poziomie 7 % orzechami W7. Przedstawione wyniki rzutują bezpośrednio na wartości objętości właściwej. Największą objętością właściwą charakteryzowała się bowiem próba kontrolna ($2,33 \text{ g/cm}^3$), najmniejszą zaś – chleb z 7-procentowym dodatkiem orzechów W7 (tab. 2). Objętość właściwa chleba zmniejszała się w miarę zwiększania poziomu wzbogacenia orzechami. W przypadku chlebów wzbogaconych na poziomie 2 %, te z dodatkiem orzechów laskowych charakteryzowały się większą objętością właściwą w porównaniu z chlebami z dodatkiem orzechów włoskich. Podobną tendencję obserwowano w przypadku chlebów wzbogaconych na poziomie 7 %, gdyż średnia wartość opisywanego parametru prób z dodatkiem L wynosiła $1,90 \text{ g/cm}^3$, a wzbogaconego W – $1,44 \text{ g/cm}^3$. Jest to zgodne z obserwacjami innych badaczy. Wzbogacenie chleba nasionami roślin oleistych [14], skórką z orzechów laskowych [2], mąką z orzechów włoskich [8], olejem i makuchami z orzechów włoskich [26] skutkowało istotnym zmniejszeniem objętości. W niniejszych badaniach wykazano, że największą porowatością charakteryzował się chleb kontrolny (tab. 2). Pory w miększu były cienkościenne i równomiernie rozłożone. Natomiast proces wzbogacenia chleba orzechami laskowymi i włoskimi o różnym stopniu dojrzałości wpłynął negatywnie na porowatość miększu. Najmniejszą porowatość stwierdzono w chlebie z 7-procentowym dodatkiem W7 oraz L7. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono silną ujemną korelację liniową pomiędzy objętością chleba a potencjałem przeciwutleniającym oznaczonym metodami ABTS⁺, DPPH^{*}, FRAP, a także zawartość polifenoli ogółem (odpowiednio: $r = -0,97$, $r = -0,98$, $r = -0,92$, $r = -0,94$, $p < 0,01$). Im większa zatem zawartość polifenoli w chlebie, tym mniejsza jego objętość. Zależność ta jest jednoznacznie związana z właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi, jakie wykazują polifenole zawarte w orzechach, szczególnie tych niedojrzałych [20]. Potwierdzeniem są wyniki badań Gomeza i wsp. [8]. Cytowani badacze zauważyli również zmniejszenie objętości chleba na skutek jego suplementacji orzechami. Na skutek negatywnego działania polifenoli na drożdże ich aktywność znacznie obniża się, co niekorzystnie wpływa na proces fermentacji i ilość wydzielonego ditlen-

ku węgla. Zdaniem Anila [2] innym powodem zmniejszenia objętości chleba wzbogaconego surowcami roślinnymi może być zmniejszenie zawartości glutenu w mieszance wypiekowej na skutek zastąpienia części mąki innym surowcem, zwiększenie zawartości białek bezglutenowych lub w przypadku użycia surowca bogatego w błonnik – interakcje pomiędzy glutenem a błonnikiem. Z kolei Gujral i Singh [9] podają, że objętość pieczywa jest istotnie związana z dodatkiem tłuszczu. W miarę zwiększania zawartości tłuszczu w chlebie zmniejsza się bowiem ilość dostępnej wody. W związku z tym obniża się aktywność drożdży oraz utrudniony jest proces kleikowania skrobi [8].

Tabela 2. Parametry fizykochemiczne badanych chlebów

Table 2. Physicochemical parameters of breads tested

Próba Sample	Objętość pieczywa Volume of bread [cm ³]	Objętość właściwa Specific volume [g/cm ³]	Współczynnik porowatości miękiszu według Dallmana Crumb porosity acc. to Dallman scale
Kontrolna Control	487 ^h ± 7	2,33 ^e ± 0,04	100
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 2 %			
L7	417 ^d ± 6	1,97 ^c ± 0,03	80
L9	475 ^g ± 5	2,28 ± 0,05	90
W7	343 ^b ± 4	1,62 ^b ± 0,02	80
W9	443 ^e ± 6	2,15 ^d ± 0,00	80
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 7 %			
L7	345 ^b ± 5	1,63 ^b ± 0,05	70
L9	455 ^f ± 5	2,18 ^d ± 0,04	80
W7	197 ^a ± 6	0,92 ^a ± 0,05	60
W9	403 ^c ± 6	1,97 ^c ± 0,05	80
Trójczynnikowa ANOVA-p / Three-way ANOVA-p			
Czynnik 1 / Factor 1	p < 0,001	p < 0,001	-
Czynnik 2 / Factor 2	p < 0,001	p < 0,001	-
Czynnik 3 / Factor 3	p < 0,001	p < 0,001	-
Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3	p < 0,001	p < 0,001	-

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

Wykazano, że barwa miękiszu chleba uległa wyraźnej zmianie w wyniku wzbogacenia orzechami. Po przeprowadzeniu analizy wariancji stwierdzono statystycznie istotny wpływ rodzaju orzechów, stopnia ich dojrzałości oraz poziomu wzbogacenia na wartość parametru L* świadczącego o jasności próbki. Największą wartością tego parametru charakteryzowała się próba kontrolna, a w wyniku wzbogacenia wartość L* ulegała istotnemu zmniejszeniu (tab. 3). Przy większym dodatku orzechów do chleba zmniejszyła się jasność miękiszu, gdyż średnia wartość L* chlebów z 2-procentowym

dodatkiem orzechów wynosiła 55,83, a z 7-procentowym – 46,96. Przy obydwu poziomach wzbogacenia chleby z dodatkiem orzechów włoskich charakteryzowały się niższą wartością parametru L^* niż chleby zawierające orzechy laskowe. W przypadku 2-procentowego dodatku orzechów wartość L^* chlebów z orzechami odpowiednio: L i W była mniejsza o ok. 9 i 30 % w porównaniu z próbą kontrolną, a przy 7-procentowym dodatku różnica była jeszcze większa, gdyż wartość L^* była mniejsza o 18 % (L) oraz o 46 % (W) w stosunku do próby kontrolnej. Jest to zgodne z obserwacjami innych autorów. Almorai [1] obserwował pociemnienie barwy miększu chleba pszennego, w którym część mąki pszennej zastąpiono mąką z orzechów włoskich. Cytowany autor zmianę tę tłumaczył głównie barwą orzechów. Podobnie inni autorzy odnotowali znaczne obniżenie wartości parametru L^* w stosunku do próby kontrolnej po dodaniu skórek z orzechów laskowych [2], nasion roślin oleistych do chleba pszenżytniego [14] czy oleju i makuchów z orzechów włoskich [26]. Na wartość parametrów a^* oraz b^* statystycznie istotnie wpływały wszystkie testowane czynniki. Największą wartością parametru b^* charakteryzowała się próba kontrolna, a najmniejszą – chleb z 2-procentowym dodatkiem W7. Z kolei próba kontrolna odznaczała się największą wartością parametru b^* , a chleb z 7-procentowym dodatkiem W7 (9,69) – najmniejszą. Jak podają Kowalczewski i wsp. [15], wartość parametru ΔE większa od 3 świadczy o tym, że różnicę między barwami próbki doświadczalnej i próbki kontrolnej można dostrzec wizualnie bez użycia metod instrumentalnych. W badaniach własnych wykazano, że największą wartością tego parametru charakteryzował się chleb wzbogacony na poziomie 7 % W7 (47,34), a najmniejszą – chleb z 2-procentowym dodatkiem orzechów laskowych zebranych we wrześniu. Stwierdzono także istotną korelację liniową pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a parametrami barwy L^* oraz ΔE (odpowiednio: $r = -0,79$, $r = 0,77$, $p < 0,01$). Na barwę chleba na pewno wpłynął skład chemiczny dodawanych orzechów, a szczególnie obecność barwników, takich jak karotenoidy oraz chlorofile. W przypadku orzechów niedojrzałych dominują barwniki chlorofilowe [20]. Chlorofile i karotenoidy to naturalne barwniki zlokalizowane w chloroplastach liści w formie kompleksu z chloroplastyną – specyficznym białkiem. Biorą one udział w procesach biosyntezy oraz nadają zieloną barwę roślinom. Chlorofile należą do najmniej trwałych barwników roślinnych. Naruszenie struktury tkankowej oraz zabiegi technologiczne polegające na działaniu podwyższonej temperatury powodują przemianę chlorofili w feofitynę, przy czym bardziej podatny na degradację jest chlorofil a, co skutkuje zmianą barwy w kierunku zielonożółtym [21]. Najsilniejszą zmianę barwy obserwowano zatem w przypadku chlebów z dodatkiem niedojrzałych orzechów włoskich, zawierających w zielonej okrywie (egzokarpie) szczególnie dużo chlorofilu, który w czasie pieczenia ulegał degradacji do brązowej feofityny. Jednak barwa jest wypadkową nie tylko rodzaju dodanych surowców, ale także przemian, jakie zachodzą w czasie wypieku. Należą do nich proces

karmelizacji cukrów oraz reakcja nieenzymatycznego ciemnienia Maillarda, której produktem są melanoidy odpowiedzialne za brązowienie skórki podczas wypieku. Stwierdzono, że zarówno melanoidy, jak i półprodukty procesu karmelizacji wykazują silne właściwości przeciwutleniające [30, 33]. Jak podają Zonani i wsp. [35], barwa chleba zależy od właściwości fizykochemicznych ciasta (zawartości wody, pH, zawartości cukrów, aminokwasów), parametrów wypieku (temperatury, wilgotności względnej, obiegu powietrza) oraz stosowanych dodatków technologicznych.

Tabela 3. Parametry barwy chlebów wzbogaconych orzechami laskowymi i włoskimi, o różnym stopniu dojrzałości

Table 3. Colour parameters of breads enriched with hazelnuts and walnuts, with different maturity stages

Próba / Sample	L*	a*	b*	ΔE
Kontrolna / Control	69,24 ^h ± 1,47	1,51 ^a ± 0,07	18,14 ^h ± 0,13	-
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 2 %				
L7	61,75 ^f ± 0,48	2,43 ^d ± 0,10	13,25 ^{cd} ± 0,27	8,92 ^b ± 0,30
L9	64,65 ^g ± 0,49	1,68 ^b ± 0,05	13,55 ^d ± 0,16	4,63 ^a ± 0,41
W7	35,84 ^b ± 0,71	9,04 ⁱ ± 0,03	17,79 ^g ± 0,20	34,51 ^f ± 0,23
W9	61,11 ^{ef} ± 0,62	3,24 ^e ± 0,02	12,95 ^c ± 0,03	9,74 ^c ± 0,50
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 7 %				
L7	52,80 ^d ± 0,49	5,79 ^g ± 0,12	17,11 ^f ± 0,16	17,49 ^d ± 0,38
L9	60,53 ^e ± 0,71	2,11 ^c ± 0,01	15,08 ^e ± 0,18	9,51 ^{bc} ± 0,33
W7	22,81 ^a ± 0,07	5,17 ^f ± 0,06	9,69 ^a ± 0,03	47,34 ^g ± 0,07
W9	51,73 ^c ± 0,59	6,30 ^h ± 0,21	12,16 ^b ± 0,47	19,23 ^e ± 0,39
Trójczynnikowa ANOVA-p / Three-way ANOVA-p				
Czynnik 1 / Factor 1	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 2 / Factor 2	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 3 / Factor 3	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3	0,203	p < 0,001	p < 0,001	0,544

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

W tab. 4. przedstawiono wartości parametrów opisujących profil tekstury badanych chlebów. Tekstura jest odzwierciedleniem właściwości reologicznych produktu. Najważniejszym jej parametrem, decydującym o jakości, trwałości i akceptowalności przez konsumentów chleba, jest twardość. Wykazano, że wszystkie testowane czynniki wpływały statystycznie istotnie na wartość tego parametru. Najmniejszą twardością charakteryzował się chleb niewzbogacony (3,59 N), a największą – chleb z 7-procentowym dodatkiem W7. Twardość chleba była większa wraz ze zwiększonym udziałem orzechów. Ponadto wykazano, że np. przy 2-procentowym dodatku średnia twardość chleba wzbogaconego W była o ponad 30 % większa w porównaniu z twardością chleba z L. Bardzo istotny był także stopień dojrzałości, np. 7-procentowy do-

datek orzechów włoskich zebranych w lipcu powodował zwiększenie twardości o ok. 150 % w porównaniu z chlebem wzbogaconym orzechami zebranymi we wrześniu. Zwiększenie twardości miękiszu pieczywa z dodatkiem orzechów może być spowodowane zmniejszeniem objętości pieczywa, a tym samym wzrostem gęstości na skutek dodatku do mąki pszennej zmielonych orzechów. W badaniach stwierdzono silnie istotną ujemną korelację liniową pomiędzy twardością a objętością i objętością właściwą chleba (odpowiednio: $r = -0,93$, $r = -0,94$, $p < 0,01$). Mniejsza objętość chleba przy tej samej masie bochenka skutkuje wystąpieniem zbitego, związłego miękiszu, który jest bardziej twardy w porównaniu z próbą kontrolną. Z danych literaturowych wynika, że twardość miękiszu zależy od zastosowanych dodatków. Kaszuba i wsp. [14] oraz Pycia i wsp. [26] stwierdzili, że wzbogacanie chleba zmielonymi nasionami roślin oleistych oraz olejem i makuchami z orzechów włoskich wpłynęło na zwiększenie twardości miękiszu. W przypadku zastąpienia mąki pszennej mąkami z nasion innych roślin zmiany mają różny charakter. Różyło i Laskowski [28] zauważyli bowiem zmniejszenie twardości miękiszu chleba, w którym mąkę pszenną zastąpiono w ilości 5 i 10 % mąką z amarantusa. Natomiast przy dodatku rzędu 15 i 20 % odnotowano wyraźny wzrost twardości. Z kolei zastąpienie mąki pszennej mąką owsianą lub ryżową

Tabela 4. Parametry tekstury chlebów wzbogaconych orzechami laskowymi i włoskimi o różnym stopniu dojrzałości

Table 4. Texture parameters of breads enriched with hazelnuts and walnuts of various maturity stages

Próba Sample	Twardość Hardness [N]	Spójność Cohesiveness	Żujność Chewiness [N]
Kontrolna / Control	3,59 ^a ± 0,61	0,68 ^d ± 0,03	3,61 ^b ± 0,28
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 2 %			
L7	9,20 ^d ± 0,88	0,67 ^d ± 0,02	5,46 ^d ± 0,27
L9	7,53 ^c ± 0,72	0,66 ^d ± 0,03	4,46 ^c ± 0,42
W7	16,41 ^f ± 1,85	0,56 ^b ± 0,01	7,84 ^e ± 0,51
W9	5,84 ^b ± 0,80	0,67 ^d ± 0,01	3,57 ^b ± 0,46
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 7 %			
L7	15,22 ^f ± 0,88	0,65 ^d ± 0,01	8,34 ^c ± 0,71
L9	11,01 ^e ± 0,64	0,64 ^{cd} ± 0,01	3,70 ^b ± 0,10
W7	39,20 ^g ± 1,12	0,52 ^a ± 0,02	16,74 ^f ± 0,47
W9	15,89 ^f ± 1,29	0,62 ^c ± 0,02	1,99 ^a ± 0,15
Trójczynnikowa ANOVA-p / Three-way ANOVA-p			
Czynnik 1 / Factor 1	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 2 / Factor 2	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 3 / Factor 3	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3	p < 0,001	0,899	p < 0,001

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

zawsze powoduje zwiększenie twardości [6]. Spójność miękiszu chleba istotnie zależała od rodzaju dodawanych orzechów, ich stopnia dojrzałości oraz poziomu wzbogacenia, natomiast w przypadku żujności istotne były także interakcje tych czynników ($p < 0,01$). Chleby wzbogacone na poziomie 7 % W9 oraz W7 charakteryzowały się odpowiednio najmniejszą i największą wartością żujności (tab. 4). Wykazano statystycznie istotną silną korelację liniową pomiędzy twardością a żujnością ($r = 0,99$, $p < 0,01$).

Wartości parametrów obrazujących potencjał przeciwutleniający analizowanych chlebów przedstawiono w tab. 5. Wykazano statystycznie istotny wpływ rodzaju orzechów, stopnia ich dojrzałości oraz poziomu wzbogacenia na potencjał przeciwutleniający chleba oznaczony metodami: z kationorodnikiem ABTS^{•+}, DPPH[•] oraz FRAP. Stwierdzono, że wzbogacenie chleba orzechami laskowymi i włoskimi, różniącymi się stopniem dojrzałości, wpłynęło statystycznie istotnie na zwiększenie jego potencjału przeciwutleniającego. Potencjał próby kontrolnej oznaczony metodami: z rodnikiem ABTS^{•+}, DPPH[•] oraz FRAP wynosił odpowiednio: 71,29, 80,95 oraz 14,16 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ Natomiast W miarę zwiększenia poziomu wzbogacenia chleba orzechami obserwowano natomiast zwiększanie się wartości opisywanych parametrów. Średnia wartość potencjału przeciwutleniającego chleba wzbogaconego na poziomie 2 i 7 % wynosiła odpowiednio: 120,82 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ oraz 173,93 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ (ABTS^{•+}), 135,99 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ oraz 203,10 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ (DPPH[•]), 29,39 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ oraz 80,78 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ (FRAP). Istotny był także rodzaj orzechów. Stwierdzono, że chleby wzbogacone orzechami włoskimi charakteryzowały się większym potencjałem przeciwutleniającym. Wartość tego parametru w przypadku chleba wzbogaconego na poziomie 2 % orzechami laskowymi i włoskimi była większa odpowiednio o ok. 52 i 87 % (ABTS^{•+}). W przypadku wzbogacenia na poziomie 7 % różnice były jeszcze większe, gdyż średni potencjał przeciwutleniający chleba wzbogaconego L był większy o 74,26 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$, a wzbogaconego W – większy o 131,03 $\mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g s.m.}$ od próby kontrolnej. Dowiedziono także, że wzbogacenie chleba orzechami zebranymi w lipcu wpłynęło znacznie bardziej na zwiększenie potencjału przeciwutleniającego w porównaniu z orzechami zebranymi we wrześniu. Wartość tego parametru w przypadku chleba z 2-procentowym dodatkiem orzechów włoskich zebranych w lipcu była o 36,99 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g s.m.}$ większa od chleba z dodatkiem orzechów laskowych. Z potencjałem przeciwutleniającym bezpośrednio wiąże się zawartość polifenoli ogółem. Najmniejszą wartością tego parametru charakteryzował się chleb niewzbogacony (4,50 mg GAE/100 g s.m.), a największą – chleb z 7-procentowym dodatkiem W7 (52,27 mg GAE/100 g s.m.). Wartość tego parametru zależała istotnie od wielkości poziomu wzbogacenia chleba. Średnia zawartość polifenoli w chlebach z 2-procentowym dodatkiem orzechów wynosiła bowiem 10,74 mg GAE/100 g s.m., a z 7-procentowym dodatkiem aż 29,35 mg GAE/100 g s.m. Istotny

był także rodzaj orzechów, gdyż przy tym samym poziomie wzbogacenia (2 %) oraz stopniu dojrzałości (7) chleb wzbogacony orzechami włoskimi charakteryzował się zawartością polifenoli większą o ponad 62 %. Silnie natomiast wpływał na zawartość polifenoli w chlebie stopień dojrzałości orzechów. Stwierdzono, że chleby wzbogacone orzechami L i W na poziomie 2 %, zebranych w lipcu, charakteryzowały się wyraźnie większą średnią zawartością polifenoli (odpowiednio o: 123 i 172 %) w porównaniu z pochodzącymi z września. Jak podają Pycia i wsp. [24, 25], stopień dojrzałości orzechów ma bardzo istotny wpływ na zawartość polifenoli. Wartość tego parametru w obu rodzajach orzechów istotnie zmniejszała się w miarę ich dojrzewania. W tym samym stadium dojrzałości (lipiec) to właśnie orzechy włoskie charakteryzowały się większą zawartością polifenoli niż laskowe. Pycia i wsp. [24] stwierdzili, że średnia zawartość polifenoli w 3 odmianach orzechów włoskich zebranych w lipcu wynosiła 1310,44 mg GAE/100 g s.m., natomiast w orzechach pozyskanych we wrześniu była znacznie mniejsza, gdyż wynosiła jedynie 716,88 mg GAE/100 g s.m. Analogiczną tendencję obserwowano w przypadku różnych odmian orzechów laskowych różniących się stopniem dojrzałości [25], niemniej jednak orzechy laskowe charakteryzują się mniejszą zawartością polifenoli ogółem. Średnia zawartość polifenoli w 6 odmianach orzechów laskowych zebranych w lipcu i we wrześniu wynosiła odpowiednio 845,91 mg GAE/100 g s.m. oraz 97,66 mg GAE/100 g s.m. Była zatem znacznie mniejsza od wartości tego parametru w przypadku orzechów włoskich zebranych w analogicznych okresach. Znajduje to odzwierciedlenie w wynikach uzyskanych w pracy. Chleby wzbogacone orzechami włoskimi charakteryzowały się większym potencjałem przeciwutleniającym niż te z orzechami laskowymi, a dodatkowo walory prozdrowotne polepszał dodatek orzechów niedojrzałych, zebranych w lipcu. Tendencja ta wynika ze składu chemicznego orzechów niedojrzałych. W badaniach stwierdzono istotną korelację liniową pomiędzy potencjałem przeciwutleniającym oznaczonym metodą z rodnikiem ABTS^{•+} a metodą DPPH[•], FRAP oraz zawartością polifenoli ogółem (odpowiednio: $r = 0,99$, $r = 0,97$, $r = 0,94$, $p < 0,01$). Stwierdzono także istotną korelację liniową pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a parametrami barwy L* oraz ΔE (odpowiednio: $r = -0,79$, $r = 0,77$, $p < 0,01$). Zawartość polifenoli ogółem statystycznie istotnie dodatnio korelowała z takimi parametrami tekstury, jak twardość oraz żujność (odpowiednio: $r = 0,87$, $r = 0,89$, $p < 0,01$). Z kolei ze spoistością zachodziła ujemna korelacja ($r = -0,69$). Potencjał przeciwutleniający chleba oraz zawartość polifenoli zależą od zawartości polifenoli w mące, dodanych składników fenolowych, innych składników bogatych w polifenole, związków o potencjale przeciwutleniającym wytworzonych podczas pieczenia (np. produkty reakcji Maillarda), produktów degradacji indukowanych termicznie lub powstających kompleksów fenolowo-polisacharydowych [18, 29, 30].

Tabela 5. Aktywność przeciwutleniająca i całkowita zawartość związków polifenolowych w chlebach wzbogaconych orzechami laskowymi i włoskimi o różnym stopniu dojrzałości

Table 5. Antioxidant activity and total content of polyphenols in hazelnut and walnut enriched breads of different maturity stage

Próba Sample	ABTS ⁺⁺	DPPH [*]	FRAP	Polifenole Polyphenols
	[μmol TE/100 g s.m.] [μmol TE/100 g d.m.]			[mg GAE/100 g s.m.] [mg GAE/100 g d.m.]
Kontrolna / Control	71,29 ^a ± 0,61	80,95 ^a ± 4,62	14,16 ^a ± 0,46	4,50 ^a ± 1,20
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 2 %				
L7	111,24 ^c ± 0,51	129,50 ^c ± 5,23	21,38 ^b ± 2,68	11,72 ^c ± 0,50
L9	105,71 ^b ± 0,67	112,33 ^b ± 1,05	17,19 ^b ± 2,18	5,26 ^b ± 0,24
W7	151,67 ^f ± 0,70	171,95 ^e ± 8,70	46,82 ^d ± 2,36	19,01 ^g ± 0,64
W9	114,68 ^d ± 3,61	130,18 ^c ± 1,86	20,19 ^b ± 0,79	6,98 ^c ± 0,85
Dodatek orzechów / Amount of nuts added – 7 %				
L7	179,42 ^g ± 1,02	195,47 ^f ± 4,81	92,35 ^f ± 4,09	42,10 ^h ± 0,56
L9	111,68 ^{cd} ± 1,29	127,68 ^c ± 2,72	29,39 ^c ± 1,28	9,28 ^d ± 0,72
W7	281,33 ^h ± 3,07	329,41 ^g ± 8,11	149,48 ^g ± 4,31	52,27 ⁱ ± 1,22
W9	123,32 ^e ± 1,08	159,84 ^d ± 6,13	51,90 ^e ± 0,84	13,75 ^f ± 0,43
Trójczynnikowa ANOVA-p / Three-way ANOVA-p				
Czynnik 1 / Factor 1	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 2 / Factor 2	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 3 / Factor 3	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Czynnik 1 × czynnik 2 × czynnik 3 / Factor 1 × factor 2 × factor 3	p < 0,001	0,899	0,012	0,908

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

W tab. 6. i 7. przedstawiono polifenole zidentyfikowane metodą UPLC-PDA-MS/MS w badanych chlebach, a w tab. 8. i 9. zestawiono ich zawartość. W sumie w chlebach wzbogaconych orzechami laskowymi i włoskimi zidentyfikowano po 12 polifenoli, natomiast w próbie kontrolnej zidentyfikowano jedynie kwas ferulowy. W chlebach z dodatkiem L występowały m.in. katechina, glukozyd kwercetyny oraz pentozyd kwasu elagowego, czyli polifenole o silnym potencjale przeciwutleniającym. Z kolei w chlebach z dodatkiem orzechów włoskich zidentyfikowano przede wszystkim kwasy fenolowe, takie jak: galusowy, chlorogenowy, neochlorogenowy, syringowy, kumarylo-chinowy. Wymienione związki charakteryzują się również bardzo silnym potencjałem przeciwutleniającym. Chleby z dodatkiem W charakteryzowały się ponad trzykrotnie większą zawartością polifenoli (22,25 μg/ml) w porównaniu z chlebariami z dodatkiem orzechów laskowych (6,31 μg/ml). Istotny był również stopień dojrzałości, gdyż największą zawartością polifenoli charakteryzował się chleb wzbogacony 7-procentowym dodatkiem orzechów włoskich (49,30 μg/ml g) i laskowych (11,88 μg/ml) zebranych w lipcu. Stwierdzono silną dodatnią korelację liniową pomiędzy zawartością polifenoli zidentyfikowanych metodą UPLC-PDA-MS/MS a zawarto-

ścią polifenoli ogółem i potencjałem przeciwutleniającym wyrażonym metodami ABTS^{•+}, DPPH[•], FRAP (odpowiednio: $r = 0,96$, $r = 0,94$, $r = 0,93$, $r = 0,95$, $p < 0,01$). Związki fenolowe są wtórnymi metabolitami warzyw i owoców. Odgrywają istotną rolę w fizjologicznych właściwościach roślin, kształtują cechy sensoryczne owoców, a przy tym wykazują ogromną pojemność przeciwutleniającą [4].

Tabela 6. Polifenole zidentyfikowane metodą UPLC-PDA-MS/MS w chlebach wzbogaconych orzechami laskowymi

Table 6. Polyphenols identified by UPLC-PDA-MS/MS method in breads enriched with hazelnuts

Nr No	Związek / Compound	Rt	[M-H] ⁻ m/z	
		min	MS	MS/MS
1	Ester digalloilowy dimeru procyanidyny Digalloyl ester of procyanidin dimer	2,42	881	577, 289
2	(+) katechina / (+)catechin	2,89	289	137
3	Kwas kumarylo-chinowy Coumarylo-quinic acid	3,49	337	191
4	8-C-ksylozyd-6-C-glukozyd apigeniny (wicenina 3) / Apigenin 8-C-xyloside-6-C-glucoside (vicenin 3)	3,66	563	269
5	6-C-ksylozyd-8-C-glukozyd apigeniny (wicenina 1) / Apigenin 6-C-xyloside-8-C-glucoside (vicenin 1)	3,88	563	269
6	Kwas kawoilo-glukarowy Caffeoyl-glucaric acid	4,12	371	179
7	3-O-glukozyd kwercetyny Quercetin 3-O-glucoside	4,34	463	301
8	Glukozyd kwasu 3,4-dikawowo-chinowego 3,4-Di-caffeoylquinic acid glucoside	4,53	677	515, 353
9	Glukozyd kwasu 3,5-dikawowo-chinowego 3,5-Di-caffeoylquinic acid glucoside	4,89	677	515, 353
10	3-O-ramnozyd kwercetyny Quercetin 3-O-rhamnoside	5,08	447	301
11	Pentozyd kwasu elagowego Ellagic acid pentoside	5,39	433	301
12	Kwas ferulowy / Ferulic acid	3,26	193	-

Objaśnienia / Explanatory notes:

Rt – czas retencji / retention time; m/z – stosunek masy do ładunku / weight-to-load ratio; MS – spektroskopia mas / mass spectroscopy.

Tabela 7. Zawartość polifenoli zidentyfikowanych w chlebach wzbogaconych orzechami laskowymi [$\mu\text{g/ml}$]Table 7. Content of identified polyphenols in breads enriched with hazelnuts [$\mu\text{g/ml}$]

Związek Compound	Rt [min]	Próba kontrolna Control sample	2 % L7	7 % L7	2 % L9	7 % L9
1	2,42	-	0,74 ± 0,01	2,25 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,69 ± 0,01
2	2,89	-	1,06 ± 0,01	5,42 ± 0,02	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,01
3	3,49	-	-	0,41 ± 0,01	0,39 ± 0,04	-
4	3,66	-	0,30 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,31 ± 0,01	-
5	3,88	-	0,36 ± 0,01	0,34 ± 0,01	-	0,43 ± 0,02
6	4,12	-	0,43 ± 0,02	0,33 ± 0,00	-	0,36 ± 0,01
7	4,34	-	-	0,49 ± 0,01	-	0,80 ± 0,07
8	4,53	-	0,63 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,74 ± 0,02
9	4,89	-	0,44 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,46 ± 0,02	-
10	5,08	-	-	0,35 ± 0,01	-	-
11	5,39	-	0,60 ± 0,02	0,39 ± 0,04	0,35 ± 0,02	0,48 ± 0,04
12	3,26	0,95	0,85 ± 0,02	0,60 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,67 ± 0,02
Suma / Total		-	5,40 ± 0,09	11,88 ± 0,04	3,38 ± 0,02	4,60 ± 0,09

Objaśnienia / Explanatory notes:

Nazwy związków określone numerami znajdują się w tab. 6 / Names of compounds denoted by numbers can be found in Tab. 6; Rt – czas retencji / retention time.

Tabela 8. Polifenole zidentyfikowane metodą UPLC-PDA-MS/MS w chlebach wzbogaconych orzechami włoskimi

Table 8. Polyphenols identified by the UPLC-PDA-MS/MS method in breads enriched with walnuts

Nr No	Związek / Compound	Rt	[M-H] ⁻ m/z	
		min	MS	MS/MS
1	Kwas galusowy / Gallic acid	1,34	169	-
2	Kwas neochlorogenowy Neochlorogenic acid	2,23	353	191
3	Kwas kumarylo-chinowy Coumarilo-quinic acid	2,72	337	191
4	Kwas chlorogenowy Chlorogenic acid	2,92	353	162
5	Glukozyd kwasu kawowego Caffeic acid glucoside	3,28	341	179
6	Kwas syryngowy / Syringic acid	3,44	197	-
7	Kwas kumarylo-chinowy Coumarilo-quinic acid	3,50	337	191
8	Pentozyd kwasu elagowego Ellagic acid pentoside	3,83	433	301
9	Tetragalloyl-glukoza / Tetragalloyl-glucose	4,45	787	635, 465, 169
10	Izomer eukalbaniny A/kornuziny B Eucalbanin A/cornusiin B isomer	4,81	1085	783, 633, 301
11	Glansreginin A / Glansreginin A	5,35	592	403, 343, 241
12	Kwas ferulowy / Ferulic acid	3,26	193	-

Objaśnienia jak pod tab. 6. / Explanatory notes as in Tab. 6.

Tabela 9. Zawartość polifenoli zidentyfikowanych w chlebach wzbogaconych orzechami włoskimi [µg/ml]

Table 9. Content of identified polyphenols in breads enriched with walnuts [µg/ml]

Związek Compound	Rt [min]	2 % W7	7 % W7	2 % W9	7 % W9
1	2,42	3,58 ± 0,06	6,41 ± 0,04	1,05 ± 0,02	2,14 ± 0,05
2	2,89	0,59 ± 0,01	4,86 ± 0,18	0,37 ± 0,04	2,10 ± 0,05
3	3,49	1,12 ± 0,01	9,88 ± 0,04	0,46 ± 0,01	5,50 ± 0,07
4	3,66	0,58 ± 0,00	1,28 ± 0,10	0,50 ± 0,02	0,50 ± 0,01
5	3,88	0,66 ± 0,01	1,52 ± 0,11	0,28 ± 0,02	0,56 ± 0,03
6	4,12	0,15 ± 0,01	4,08 ± 0,13	0,17 ± 0,03	1,85 ± 0,05
7	4,34	0,31 ± 0,01	3,37 ± 0,08	1,41 ± 0,03	1,18 ± 0,03
8	4,53	1,74 ± 0,05	-	-	-
9	4,89	1,61 ± 0,01	7,41 ± 0,10	-	4,09 ± 0,05
10	5,08	0,50 ± 0,04	1,72 ± 0,14	0,48 ± 0,03	1,17 ± 0,03
11	5,39	-	7,87 ± 0,17	-	2,74 ± 0,04
12	3,26	0,79 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,66 ± 0,01	0,49 ± 0,02
Suma / Total	-	11,78 ± 0,11	49,30 ± 0,19	5,60 ± 0,06	22,32 ± 0,07

Objaśnienia / Explanatory notes:

Nazwy związków określone numerami znajdują się w tab. 8. / The names of compounds identified by numbers can be found in Tab. 8; Rt – czas retencji / retention time.

Profil i zawartość polifenoli w badanym chlebie był wypadkową wielu czynników, takich jak skład chemiczny ziarna, technologia otrzymywania czy charakter dodawanych surowców. Jak podają Liyana-Pathirana i Shahidi [16], ziarno pszenicy zawiera kwasy fenolowe, saponiny, fitoestrogeny i flawonoidy. Do związków fenolowych o silnym działaniu przeciwutleniającym występujących w ziarnie pszenicy należą kwasy: ferulowy, wanilinowy, p-kumarowy. Większość tych cennych związków zlokalizowana jest w okrywie owocowo-nasiennej. W wyniku przemiału ziarna na mąkę część z tych substancji wraz z otrębami jest tracona, niewielka zaś część pozostaje w mące. Skuteczną metodą zwiększania podaży polifenoli w chlebie jest zatem jego wzbogacanie surowcami zasobnymi w te związki, a takimi są orzechy. W omawianym przypadku chleby wzbogacone orzechami zebrnymi w lipcu (nieodjrzałymi) charakteryzowały się znacznie wyższym potencjałem przeciwutleniającym. Silny potencjał przeciwutleniający niedojrzałych orzechów włoskich wynika ze składu chemicznego zielonej okrywy (egzokarpu), która występuje we wczesnych fazach dojrzałości. Stampar i wsp. [32] zidentyfikowali w zielonej okrywie niedojrzałych orzechów włoskich trzynaście związków o bardzo silnych właściwościach przeciwutleniających, m.in. kwasy: chlorogenowy, kawowy, ferulowy, synapowy, galusowy, elagowy, protokatechowy, syringowy, wanilinowy oraz katechinę, epikatechinę, mirycetynę i juglon (5-hydrokso-1,4-naftochinon). Podobnie Pycia i wsp. [24] stwierdzili w składzie polifenoli orzechów włoskich różniących się stopniem dojrzałości sześć pochodnych kwa-

su hydroksybenzoesowego, pięć pochodnych kwasu hydroksycynamonowego oraz pięć flawonoidów. Ponadto cytowani badacze rozpoznali siedem pochodnych/izomerów kwasów dikarboksylowych, pochodne kwasu elagowego oraz chinowego. Z kolei ci sami autorzy [25] zidentyfikowali w profilu orzechów laskowych różniących się stopniem dojrzałości łącznie 15 związków polifenolowych o silnych właściwościach przeciwutleniających. Dominującą grupę stanowiły związki zaliczane do tanin zarówno kondensujących, jak i hydrolizowanych. Pozostałe związki wchodzące w skład profilu należały do kwasów fenolowych oraz flawonoli. W grupie kwasów fenolowych występowały kwasy galusowy i chlorogenowy oraz pochodna kwasu kawowego. Z kolei grupę flawonoli tworzył heksozyd kwercetyny oraz heksozyd kemferolu. W obydwu rodzajach analizowanych orzechów cytowani autorzy stwierdzili istotne zmniejszenie się zawartości polifenoli w miarę dojrzewania orzechów. Tendencja ta ma odzwierciedlenie w badaniach własnych. Potencjał przeciwutleniający chlebów z dodatkiem W był większy niż z dodatkiem L, a wartość tego parametru malała wraz ze stopniem dojrzałości orzechów.

Wnioski

1. Stwierdzono, że rodzaj orzechów, stopień ich dojrzałości oraz poziom wzbogacenia miały istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające chleba pszennego.
2. Chleby wzbogacone orzechami włoskimi charakteryzowały się mniejszymi wartościami: objętości, parametru L* i twardości miękkiszu w porównaniu z chlebami z dodatkiem orzechów laskowych. Wartości tych parametrów były wyższe w chlebach z dodatkiem orzechów dojrzałych.
3. Najsilniejszym potencjałem przeciwutleniającym i największą zawartością polifenoli charakteryzowały się chleby wzbogacone orzechami włoskimi, zwłaszcza pozyskanymi w lipcu.
4. Profil zidentyfikowanych związków polifenolowych w chlebach oraz ich zawartość zależała od rodzaju dodawanych orzechów oraz stopnia ich dojrzałości.

Badania sfinansowane w ramach dotacji Uniwersytetu Rzeszowskiego na prowadzenie działalności naukowej w 2020 roku.

Literatura

- [1] Almoraie N.M.: The effect of walnut flour on the physical and sensory characteristics of wheat bread. *Int. J. Food Sci.*, 2019, #5676205. DOI: 10.1155/2019/5676205.
- [2] Anil M.: Using of hazelnut testa as a source of dietary fiber in breadmaking. *J. Food Eng.*, 2007, 80, 61-67.

- [3] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996, 239, 70-76.
- [4] Bravo L.: Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 2009, 56, 317-333.
- [5] Dallmann H.: Porentabelle. 4. Auflage. Verlag Moritz Schafer, Detmold 1981.
- [6] Dziki D., Siastała M., Laskowski J.: Zmiany właściwości fizycznych pieczywa pszenne pod wpływem dodatku mąki sojowej. *Acta Agrophysica*, 2010, 15 (1), 91-100.
- [7] Gao X., Ohlander M., Jeppson N., Björk L., Trajkovski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 48 (5), 1485-1490.
- [8] Gomez M., B. Oliete B., Caballero P.A., Ronda F., Blanco C.A.: Effect of nut paste enrichment on wheat dough rheology and bread volume. *Food Sci. Technol. Int.*, 2008, 14 (1), 57-65.
- [9] Gujral H.S., Singh N.: Effect of additives on dough development, gaseous release and bread making properties. *Food Res. Int.*, 1999, 32, 691-697.
- [10] Jakubczyk T., Haber T.: Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW, Warszawa 1983.
- [11] Jędrzejczyk H., Hoffmann M.: Tendencje w produkcji wyrobów piekarniczych o podwyższonej wartości odżywczej. *Postępy Techniki Przetw. Spoż.*, 2008, 1, 48-54.
- [12] Kapusta I., Cebulak T., Oszmiański J.: Characterization of Polish wines produced from the interspecific hybrid grapes grown in southeast Poland. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244 (3), 441-455.
- [13] Karolini-Skaradzińska Z., Czubaszek A., Łuczak D., Frączak A.: Jakość ciasta i pieczywa pszenne z dodatkiem serwatki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 6 (73), 46-57.
- [14] Kaszuba J., Pycia K., Wiśniewski R., Jaworska G., Kuźniar P.: Wpływ udziału nasion wybranych roślin oleistych na jakość chleba pszenżytniego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2017, 4 (113), 90-102.
- [15] Kowalczewski P.L., Walkowiak K., Masewicz Ł., Duda A., Poliszko N., Różańska M.B., Jeżowski P., Tomkowiak A., Mildner-Szkudlarz S., Baranowska H.M.: Wheat bread enriched with raspberry and strawberry oilcakes: Effects on proximate composition, texture and water properties. *Euro. Food Res. Technol.*, 2019, 245, 2591-2600.
- [16] Liyana-Pathirana C.M., Shahidi F.: The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum. *J. Cereal Sci.*, 2007, 45, 238-247.
- [17] Makinde F.M., Akinoso R.: Physical, nutritional and sensory qualities of bread samples made with wheat and black sesame (*Sesamum indicum* Linn) flours. *Int. Food Res. J.*, 2014, 21 (4), 1635-1640.
- [18] Michalska A., Amigo-Benavent M., Zielinski H., del Castillo M.D.: Effect of bread making on formation of Maillard reaction products contributing to the overall antioxidant activity of rye bread. *J. Cereal Sci.*, 2008, 48, 123-132.
- [19] Nwosu U.L., Elochukwu C.U., Onwurah C.O.: Physical characteristics and quality of bread produced from wheat African oil bean flour blends. *Afr. J. Food Sci.*, 2014, 8 (6), 351-355.
- [20] Persic M., Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Solar A., Veberic R.: Changes in phenolic profiles of red-colored pellicle walnut and hazelnut kernel during ripening. *Food Chem.*, 2018, 252, 349-355.
- [21] Polak R., Dziki D., Krzykowski A., Rudy S., Różyło R.: Wpływ parametrów sublimacyjnego suszenia na retencję chlorofili i karotenoidów w suszach z liści selera zwyczajnego (*Apium graveolens* L.). *Motrol. Commission Motorization Energetics Agricul.*, 2014, 16, 1, 105-112.
- [22] Pühr D.P., D'Appolonia B.L.: Effect of baking absorption on bread yield, crumb moisture, and crumb water activity. *Cereal Chem.*, 1992, 69 (5), 582-586.
- [23] Pycia K., Jaworska G., Telega J., Sudoł I., Kuźniar P.: Effect of adding potato maltodextrins on baking properties of triticale flour and quality of bread. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2017, 96, 199-204.

- [24] Pycia K., Kapusta I., Jaworska G.: Impact of the degree of maturity of walnuts (*Juglans regia* L.) and their variety on the antioxidant potential and the content of tocopherols and polyphenols. *Molecules*, 2019, 24(16), #2936. DOI: 10.3390/molecules24162936.
- [25] Pycia K., Kapusta I., Jaworska G.: Changes in antioxidant activity, profile, and content of polyphenols and tocopherols in common hazel seed (*Corylus avellana* L.) depending on variety and harvest date. *Molecules*, 2020, 25(1), #43. DOI: 10.3390/molecules25010043.
- [26] Pycia K., Kapusta I., Jaworska G.: Walnut oil and oilcake affect selected the physicochemical and antioxidant properties of wheat bread enriched with them. *J. Food Process. Pres.*, 2020, 44(8), #e14573. DOI: 10.1111/jfpp.14573.
- [27] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, 1231-1237.
- [28] Różyło R., Laskowski J.: Wpływ dodatku produktów z amarantusa na cechy tekstury miękkiszu pieczywa. *Acta Agrophysica*, 2008, 11 (2), 499-508.
- [29] Rupasinghe H.P.V., Wang L., Huber G.M., Pitts N.L.: Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chem.*, 2008, 107, 1217-1224.
- [30] Sivam A., Sun-Waterhouse D., Quek S.Y., Perera C.O.: Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: A review. *J. Food Sci.*, 2010, 75 (8), 163-174.
- [31] Sobczyk A., Pycia K., Stankowski S., Jaworska G., Kuźniar P.: Evaluation of the rheological properties of dough and quality of bread made with the flour obtained from old cultivars and modern breeding lines of spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*). *J. Cereal Sci.*, 2017, 77, 35-41.
- [32] Stampar F., Solar A., Hudina M., Veberic R., Colaric M.: Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. *Food Chem.*, 2006, 95 (4), 627-631.
- [33] Tsai P.-J., Yu T.-Y., Chen S.-H., Liu C.-C., Sun Y.-F.: Interactive role of colour and antioxidant capacity in caramels. *Food Res. Int.*, 2009, 42, 380-386.
- [34] Yen G.C., Chen H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43, 27-32.
- [35] Zanoni B., Peri C., Bruno D.: Modelling of browning kinetics of bread crust during baking. *LWT-Food Sci. Technol.*, 1995, 28 (6), 604-609.

**EFFECT OF HAZELNUT AND WALNUT MATURITY STAGE AND OF AMOUNT
OF THEIR ADDITIVE ON PHYSICOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES
OF ENRICHED WHEAT BREAD**

S u m m a r y

Wheat bread is an example of a product that can be enriched with bioactive ingredients. The objective of the research study was to assess the effect of enriching wheat bread with hazelnuts and walnuts of various maturity stages. Hazelnuts and walnuts were harvested in July and September. In the baking mix the ground nuts constituted 2 % and 7 % of the flour amount. The control sample was non-enriched bread. The bread was made using a direct method with yeast. Under the research study the following was calculated: dough efficiency, baking, total baking loss and bread efficiency. There were determined: bread volume, specific volume, crumb porosity, colour in the CIE L*a*b* system and texture parameters. Also determined were antioxidant properties of bread (using ABTS⁺, DPPH, and FRAP methods), total content of polyphenolic compounds, profile and content of polyphenols using an UPLC-PDA-ESI-MS method. A three-way ANOVA was used to analyse the results.

It was found that enriching the bread with nuts of different maturity stages impacted its physicochemical and antioxidant properties. The higher amount of nuts added, the higher the dough efficiency and the bread efficiency were. The control sample was characterised by the highest volume, and enriching the bread with nuts resulted in a reduction in its volume. The smallest volume was characterized by the bread enriched with unripe walnuts harvested in July. The crumb of this bread was characterised by the lowest L^* value and it was the hardest. The type of nuts and their maturity stage had a significant effect on the antioxidant properties and content of polyphenols in bread. The values of those parameters decreased with the increasing maturity of the nuts added, and the breads enriched with walnuts were characterised by a significantly higher content of total polyphenols compared to the control sample and to those enriched with hazelnuts. Twelve compounds were identified in the profile of polyphenols of the breads tested.

Key words: wheat bread, nuts, maturity stage, enrichment, polyphenols ☒

JOANNA KASZUBA, ZUZANNA POSADZKA, BARBARA KOGUT,
GRAŻYNA JAWORSKA, PIOTR KUŹNIAR, AGNIESZKA ŁUKASZEK

PORÓWNANIE JAKOŚCI MUFFIN BEZGLUTENOWYCH Z MĄKI JAGLANEJ I GRYCZANEJ

Streszczenie

Jedynym sposobem leczenia celiakii, glutenozałejnej choroby trzewnej lub enteropatii glutenowej, jest całkowite wyeliminowanie białek glutenowych z pożywienia, co wiąże się z bezwzględnym przestrzeganiem diety bezglutenowej. Celem pracy było określenie receptury oraz porównanie jakości muffin bezglutenowych gryczanych, jaglanych oraz gryczano-jaglanych wyprodukowanych w dwóch wariantach smakowych: słodkim oraz wytrawnym. Badania jakości muffin obejmowały ocenę ich wyglądu zewnętrznego i miękiszu, a także pomiar parametrów barwy, analizę parametrów profilu tekstury (test TPA) i ocenę organoleptyczną. W ocenie organoleptycznej słodkich wyrobów najwyżej oceniono muffiny gryczane oraz gryczano-jaglany, zaś wśród muffin wytrawnych – gryczane i zaliczono je do bardzo dobrej klasy jakości. Jakość pozostałych muffin sklasyfikowano jako dobrą. Barwa badanych muffin bezglutenowych była w różnym stopniu zależna od rodzaju użytej mąki i pozostałych składników receptury. Miękiusz muffin był podobnej elastyczności, zaś pozostałe parametry ich tekstury były istotnie zróżnicowane. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane bezglutenowe mąki jednogatunkowe, jak i ich mieszanki, można stosować do produkcji muffin o dobrej jakości organoleptycznej, mogących wzbudzić zainteresowanie konsumentów poszukujących wartościowych i smacznych, a przede wszystkim dietetycznych produktów zbozowych.

Słowa kluczowe: muffiny bezglutenowe, mąka jaglana, mąka gryczana, TPA, ocena organoleptyczna

Wprowadzenie

Celiakia, nazywana również glutenozałejną chorobą trzewną lub enteropatią glutenową, jest schorzeniem przyczyniającym się do nieprawidłowego funkcjonowania jelit w kontakcie z białkami glutenowymi – prolaminami ziarna pszenicy, żyta i jęcz-

Dr inż. J. Kaszuba, mgr inż. Z. Posadzka, dr inż. B. Kogut, prof. dr hab. G. Jaworska, inż. A. Łukaszek, Zakład Ogólnej Technologii Żywności i Żywności Człowieka, Instytut Technologii Żywności i Żywności, dr hab. inż. P. Kuźniar, prof. UR, Zakład Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej, Instytut Nauk Rolniczych, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów. Kontakt: jkaszuba@ur.edu.pl

mienia. Pod wpływem tych białek w jelicie cienkim zanikają kosmki, co uniemożliwia wchłanianie substancji odżywczych. Może także nastąpić reakcja immunologiczna organizmu. Jedynym sposobem leczenia celiakii jest całkowite wyeliminowanie białek glutenowych z pożywienia, co oznacza bezwzględne przestrzeganie diety bezglutenowej [10].

Produkcja bezglutenowych wyrobów zbożowych o właściwej teksturze jest utrudniona ze względu na eliminację głównego składnika strukturotwórczego występującego w klasycznych wyrobach zbożowych, jakim jest gluten. Wiąże się to z dużymi trudnościami w uzyskaniu odpowiednich cech reologicznych ciasta z surowca bezglutenowego, umożliwiającymi prawidłowe uformowanie kęsów oraz uzyskanie produktu końcowego o odpowiedniej jakości. Ciasto bezglutenowe jest niesprężyste, lepkie i w niewielkim stopniu spoiste. Gdy zostanie przekroczona granica sprężystości, zaczyna ono wykazywać cechy płynu lub układu lepkosprężystego [5]. Niewystarczająca lepkość lub jej brak, tak samo jak niewłaściwa sprężystość, utrudniają formowanie ciasta bezglutenowego oraz mogą powodować niewystarczające jego spulchnienie. W praktyce piekarskiej stosuje się zatem substancje, które pozwalają zwiększyć lepkość takiego ciasta [18]. Ze względu na właściwości zagęszczające najczęściej wykorzystywanymi substancjami są hydrokoloidy, a w szczególności polisacharydy. W wyrobach bazujących na surowcach naturalnie niezawierających glutenu zastępują one strukturotwórcze właściwości białek glutenowych. Najczęściej stosuje się m.in. gumę arabską, gumę guar, pektyny, albuminy jaja kurzego lub carob [7].

Zgodnie z unijnymi przepisami za produkt bezglutenowy uważa się taki, który nie zawiera glutenu lub poziom jego zawartości został ograniczony technologicznie do wartości nie większej niż 20 mg/kg produktu [15]. Na liście najczęściej wykorzystywanych półproduktów do wytwarzania wyrobów bezglutenowych znajdują się m.in. ziarno ryżu, gryki, prosa, kukurydzy, czy proszki warzywne, jak również surowce poddane technologicznemu zmniejszeniu zawartości białek glutenowych do dopuszczalnego poziomu, np. skrobia pszenna bezglutenowa. Licencjonowane produkty bezglutenowe są objęte kontrolą atestową i oznaczane oficjalnym znakiem przekreślonego kłosa [12].

W ciągu ostatnich lat asortyment produktów bezglutenowych w Polsce został znacząco poszerzony i jest bardziej atrakcyjny pod względem różnorodności i dostępności takich produktów. Konsumenty mogą wybierać pomiędzy wyrobami producentów krajowych, włoskich, czeskich oraz niemieckich. Na rynku polskim wiele produktów bezglutenowych zawiera bezglutenową skrobię pszenną [16]. W produkcji wyrobów bezglutenowych często stosuje się mąki otrzymane z ziarna zbóż niezawierających białek glutenowych, np. z prosa czy gryki. Ziarno prosa jest surowcem, z którego uzyskuje się kaszę, ale także mąkę i płatki. Mąka jaglana charakteryzuje się łagodnie orzechowym zapachem i zyskuje akceptację świadomych żywieniowo

konsumentów [4]. Nasiona gryki są wykorzystywane przede wszystkim jako surowiec, z którego produkuje się kaszę, w mniejszych ilościach mąkę i płatki. Są one bogate w białko bezglutenowe, witaminy, błonnik pokarmowy oraz mikroelementy, m.in. cynk, żelazo i miedź [2].

Celem pracy było określenie receptury oraz porównanie jakości muffin bezglutenowych gryczanych, jaglanych oraz gryczano-jaglanych wyprodukowanych w dwóch wariantach smakowych: wytrawnym oraz słodkim.

Material i metody badań

Badaniom poddano trzy rodzaje muffin bezglutenowych otrzymanych na bazie mąki jaglanej, gryczanej oraz ich mieszanki, w dwóch wariantach smakowych: słodkim – z dodatkiem kakao oraz wytrawnym – z suszonymi pomidorami.

Muffiny słodkie (G1, J1, GJ1) i wytrawne (G2, J2, GJ2) produkowano według receptur przedstawionych w tab. 1. Po połączeniu w jednolitą masę składników receptury wykonywano porcjowanie ciasta (po 25 g) do wielodołkowej (wysokość 20 mm, średnica 45/30 mm) silikonowej formy do muffin i umieszczano w piecu piekarskim Classic (SvebaDahlen, Szwecja). Muffiny pieczono przez 15 min w temp. 180 °C. Gotowy produkt pozostawiano do wystudzenia. Sporządzono po 3 wypieki każdego rodzaju muffin. Analizy każdego wypieku wykonywano w 3 powtórzeniach.

Tabela 1. Receptury słodkich i wytrawnych muffin bezglutenowych

Table 1. Recipes of sweet and dry tasting gluten-free muffins

Składniki Ingredients	Producent Producer	Rodzaj muffin / Type of muffins		
		gryczane buckwheat [G1/G2]	jaglana millet [J1/J2]	gryczano-jaglana buckwheat-millet [GJ1/GJ2]
Wariant smakowy słodki (1) Sweet taste (1)		Udział składnika [g/100 g] Content of ingredient [g/100 g]		
Mąka gryczana* Buckwheat flour	Bezgluten	24,54	-	12,27
Mąka jaglana* Millet flour	Bezgluten	-	24,54	12,27
Proszek do pieczenia* Baking powder	Dr. Oetker	0,49	0,49	0,49
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Kujawski	4,42	4,42	4,42
Jajo (rozmiar M) Egg (size M)	Ovo-Res	12,52	12,52	12,52
Mleko 2 % zaw. tł. Milk 2 % fat content	Mlekovita	25,28	25,28	25,28
Cukier wanilinowy Vanilla sugar	Dr. Oetker	0,73	0,73	0,73

Cukier / Sugar	Diamant	24,54	24,54	24,54
Kakao / Cocoa	DecoMorreno	7,36	7,36	7,36
Chili w proszku Chili powder	Dary Natury	0,12	0,12	0,12
Wariant smakowy wytrawny (2) Dry taste (2)		Udział składnika [g/100 g] Content of ingredient [g/100 g]		
Mąka gryczana* Buckwheat flour	Bezgluten	33,74	-	16,87
Mąka jaglana* Millet flour	Bezgluten	-	33,74	16,87
Proszek do pieczenia* Baking powder	Dr. Oetker	0,65	0,65	0,65
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Zakłady Tłuszczowe „Kruszwica” S.A.	5,83	5,83	5,83
Jajo (rozmiar M) Egg (size M)	Ovo-Res	16,33	16,33	16,33
Mleko 2 % zaw. tł. Milk 2 % fat content	Mlekovita	31,50	31,50	31,50
Suszone pomidory Dried tomatoes	Okechamp	9,73	9,73	9,73
Suszona bazylia Dried basil	Prymat	0,65	0,65	0,65
Suszone oregano Dried oregano	Prymat	0,65	0,65	0,65
Sól / Salt	o'Sole	0,92	0,92	0,92

Objaśnienie / Explanatory note:

* – produkt bezglutenowy z licencjonowanym znakiem przekreślonego kłosa / gluten-free product with a licenced crossed grain symbol

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

Ocena jakości muffin obejmowała oznaczenie podstawowych wyróżników jakości, tj. masy i objętości, parametrów barwy, parametrów profilu tekstury oraz ocenę organoleptyczną gotowego produktu.

Muffiny oceniano organoleptycznie metodą pięciopunktową zgodnie z PN-A-88115:1998 [13], z modyfikacją własną. Zespół oceniający (18 osób) uwzględniał takie cechy, jak: kształt i wygląd zewnętrzny, smak, zapach, barwa miękiszu oraz porowatość i elastyczność miękiszu. Klasyfikacji jakościowej muffin bezglutenowych dokonywano na podstawie sumy uzyskanych punktów według kryteriów podanych w tab. 2.

W określeniu jakości produktu uwzględniono także wizualną ocenę muffin, m.in. wygląd zewnętrzny i kształt oraz wygląd miękiszu, które udokumentowano na fotografiach.

Masę muffin określano na wadze PS 3500.R2 (Radwag, Polska), natomiast ich objętość wyznaczano w materiale sypkim (nasiona prosa) metodą opisaną przez Jakubczyka i Habera [8].

Tabela 2. Klasyfikacja jakościowa muffin bezglutenowych

Table 2. Qualitative classification of gluten-free muffins

Suma punktów / Total points	Klasa jakości / Quality class
30 ÷ 27	Bardzo dobra / Very good
26 ÷ 22	Dobra / Good
21 ÷ 16	Dostateczna / Sufficient
15 ÷ 11	Niedostateczna / Insufficient
10 ÷ 0	Zła / Bad

Pomiaru barwy dokonywano metodą odbiciową w systemie CIE L*a*b przy użyciu spektrofotometru UltraScan VIS firmy HunterLab (USA). System ten pozwala na zdefiniowanie cech związanych zarówno z jasnością, jak i barwą badanych próbek dzięki zmiennym:

L* – jasność, wyrażona w procentach: od 0 % (czerń) do 100 % (biel),

a* – parametr nasycenia barwy: od zielonej („-a”) do czerwonej („+a”),

b* – parametr nasycenia barwy: od niebieskiej („-b”) do żółtej („+b”).

Pomiar prowadzono w świetle odbitym z zastosowaniem iluminantu D65, typ obserwatora 10° (D65/10), którego ciągle widmo w zakresie widzialnym jest najbardziej zbliżone do światła dziennego, jego temperatura barwowa to 6505 K [3, 11]. Oznaczenie barwy każdego rodzaju muffin wykonano w 6 powtórzeniach, a jako wynik przyjmowano średnią arytmetyczną z otrzymanych wyników.

Pomiar parametrów profilu tekstury (TPA) wykonywano przy użyciu teksturometru Brookfield CT3 (Brookfield, USA). Odpowiednio przygotowane próbki produktu o wysokość 12 mm poddawano dwukrotnemu działaniu stalowej walcowej sondy o średnicy 6/10 mm, poruszającej się z prędkością 1 mm/s, polegającemu na odkształceniu do połowy wysokości próbki. Na podstawie pomiaru wyznaczano takie parametry, jak: twardość I (w pierwszym cyklu pomiarowym) i twardość II (w drugim cyklu pomiarowym), adhezyjność, sprężystość, żujność i kohezyjność. W badaniach zastosowano program TexturePro CT (Brookfield, USA).

Z uzyskanych wyników obliczano wartości średnie i odchylenia standardowe. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oceniano jednoczynnikową analizą wariancji (ANOVA), przy wykorzystaniu testu Duncana ($p \leq 0,05$). Do analizy wyników użyto programu Statistica 13.1 (StatSoft, USA).

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań jakości muffin bezglutenowych zestawiono w tab. 3 - 6.

Masa, jak i objętość badanych muffin były nieznacznie zróżnicowane, przy czym wyższe wartości, nie zawsze statystycznie istotne, wymienionych parametrów obserwowano w przypadku muffin słodkich (tab. 3).

Tabela 3. Charakterystyka fizyczna muffin bezglutenowych

Table 3. Physical profile of gluten-free muffins

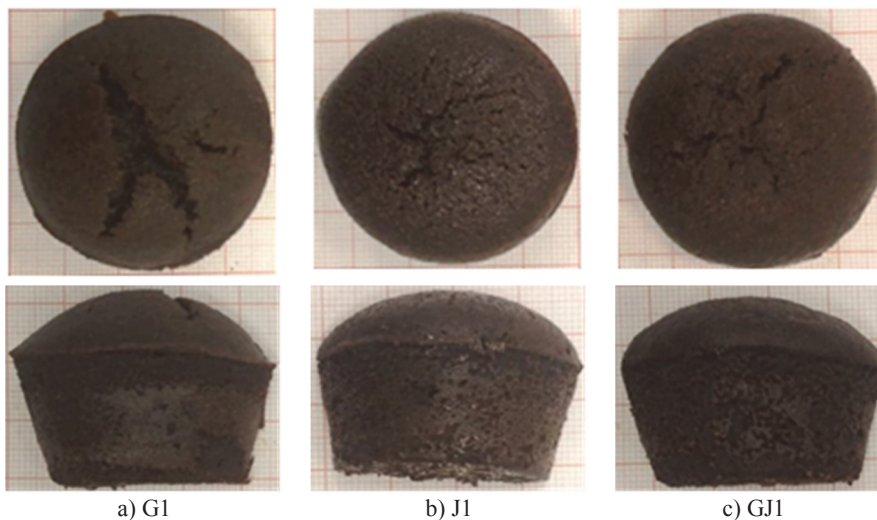
Symbol próby Test symbol	Masa Mass [g]	Objętość Volume [cm ³]	Objętość właściwa [cm ³ /g ciasta] Specific volume [cm ³ /g of dough]
G1	16,62 ^a ± 0,43	44 ^c ± 2	1,75 ± 0,05
J1	17,50 ^b ± 0,27	39 ^b ± 1	1,56 ± 0,03
GJ1	17,44 ^b ± 0,25	42 ^{bc} ± 2	1,69 ± 0,07
G2	16,37 ^a ± 0,55	37 ^{ab} ± 2	1,47 ± 0,03
J2	17,15 ^{ab} ± 0,16	34 ^a ± 1	1,39 ± 0,04
GJ2	16,56 ^a ± 0,42	38 ^b ± 1	1,52 ± 0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

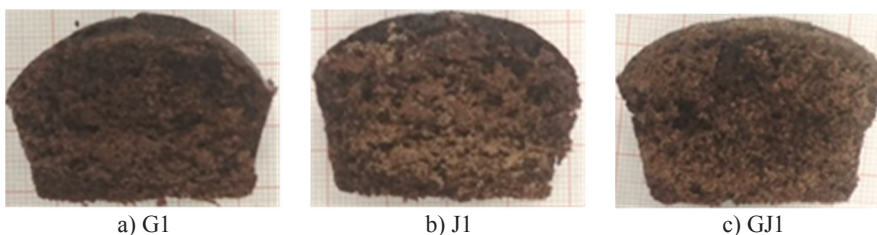
Muffiny słodkie / Sweet muffins: G1 – gryczane / buckwheat; J1 – jaglane / millet; GJ1 – gryczano-jaglany / buckwheat and millet; Muffiny wytrawne / Dry tasting muffins: G2 – gryczane / buckwheat; J2 – jaglane / millet; GJ2 – gryczano-jaglany / buckwheat and millet; a, b, ... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p = 0,05$ / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly at $p = 0.05$.

Objętość badanych muffin była zróżnicowana (tab. 3). Znacznie mniejsze wartości tego parametru odnotowano w wariantach wytrawnych muffin gryczanych (G2) i jaglanych (J2). Warianty muffin uzyskane z mieszanek mąk bezglutenowych GJ1 i GJ2 nie były zróżnicowane pod względem objętości. Objętość muffin bezglutenowych uzyskanych przez Rajiva i wsp. [14] oraz Ziobrę i wsp. [19] odbiegały od wyników własnych, a wymienieni autorzy do wypieku użyli różnych mieszanek i innych porcji ciasta. Muffiny z mieszanek mąki pszennej i jaglanej, które przygotowali Rajiv i wsp. [14], cechowały się tym mniejszą objętością, im większy był udział mąki jaglanej w mieszance, a objętość muffin uzyskanych w całości z mąki jaglanej wyniosła 1,15 cm³/g ciasta. W badaniach własnych (tab. 3) uzyskano muffiny jaglane o większej objętości [cm³/g ciasta]: 1,56 (J1) oraz 1,39 (J2). Z kolei muffiny wypieczone przez Ziobrę i wsp. [19] z mieszanki mąk bezglutenowych własnej kompozycji osiągnęły objętość 2,26 cm³/g ciasta, czyli znacznie większą niż w niniejszych badaniach (1,39 ÷ 1,75 cm³/g ciasta). Na wielkość omawianego parametru wpływa skład recepturowy produktu. W badaniach wymienionych autorów [14, 19] do otrzymania muffin zużyto większą liczbę jaj (3 sztuki) oraz dodano więcej środka spulchniającego (5 g), co miało bardzo duży wpływ na objętość gotowego produktu. Ponadto Ziobro i wsp. [19] użyli innych mąk bezglutenowych do sporządzania ciasta do wypieku muffin, zaś Rajiv i wsp. [14] zastosowali także dodatek hydrokoloidów mających wpływ na wzmocnienie struktury gotowego produktu.

Wygląd zewnętrzny powierzchni (fot. 1) i wygląd miększu (fot. 2) badanych muffin słodkich był właściwy dla zastosowanych składników. Powierzchnia była lekko popękana i o ciemnobrązowej barwie ze względu na zastosowane w recepturze kakao. Miększ muffin wskazywał na pełne wypieczenie, nie zaobserwowano żadnych zmian wpływających na obniżenie jakości produktu.

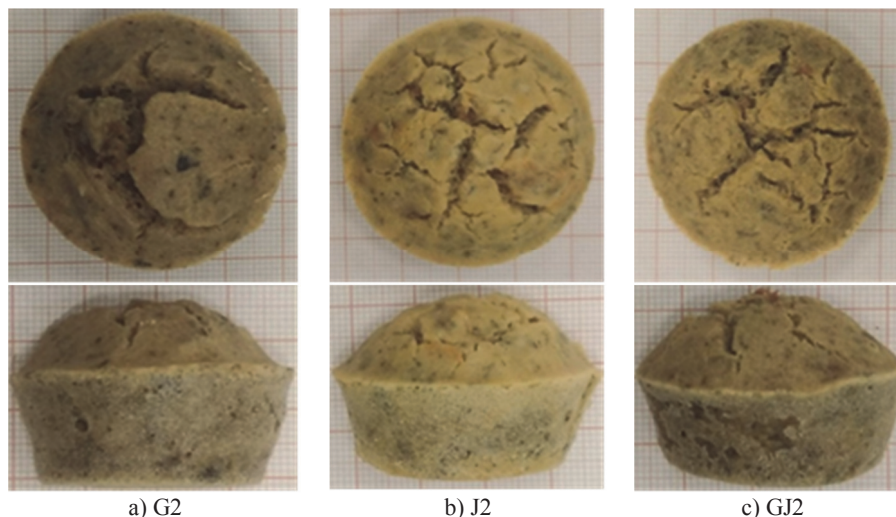


Fot. 1. Wygląd zewnętrzny słodkich muffin bezglutenowych
Photo 1. External appearance of sweet gluten-free muffins



Fot. 2. Wygląd miększu słodkich muffin bezglutenowych
Photo 2. Crumb appearance of sweet gluten-free muffins

W przypadku muffin wytrawnych zaobserwowano jasną, charakterystyczną dla surowca barwę powierzchni z pęknięciami (fot. 3) wyraźniej zaznaczonymi niż w muffinach słodkich (fot. 1). Także wyraźniej niż w muffinach słodkich (fot. 1 i 2) widoczna była barwa zastosowanej mąki, gdyż muffiny wypieczone według receptury G2 i GJ2 z udziałem mąki gryczanej były nieznacznie ciemniejsze niż muffiny z mąki jaglanej (J2).

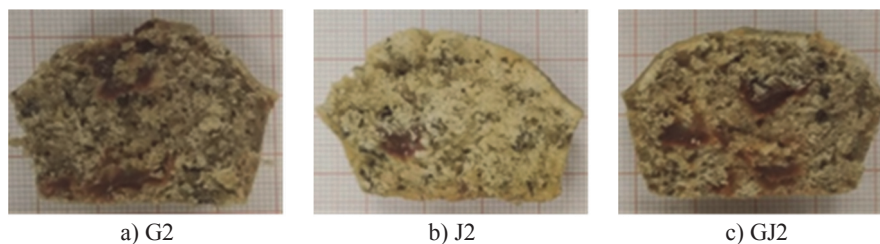


a) G2

b) J2

c) GJ2

Fot. 3. Wygląd zewnętrzny wytrawnych muffin bezglutenowych
Photo 3. External appearance of dry taste gluten-free muffins



a) G2

b) J2

c) GJ2

Fot. 4. Wygląd miększu wytrawnych muffin bezglutenowych
Photo 4. Crumb appearance of dry taste gluten-free muffins

Miękisz muffin wytrawnych (fot. 4) odznaczał się dobrą jakością. Widoczny był udział przypraw (bazylii, oregano i suszonych pomidorów) w przekroju miększu, co podkreślało walory organoleptyczne produktu.

Muffiny bezglutenowe poddano ocenie organoleptycznej, a wyniki zamieszczono w tab. 4. Stwierdzono, że nieznacznie wyższą średnią jakością charakteryzowały się muffiny słodkie (26,65 pkt), spośród których najwyżej oceniono produkty G1 (27,28 pkt) i GJ1 (27,05 pkt), na co złożyły się wyższe oceny głównie za smak i barwę. Spośród muffin wytrawnych, które średnio oceniono na 25,61 pkt, najwyższą jakość organoleptyczną, porównywalną z muffinami słodkimi, charakteryzowały się produkty wypieczone według receptury G2 bazującej na mące gryczanej (27,39 pkt). Pozostałe muffiny kwalifikowały się do dobrej klasy jakości.

Tabela 4. Wyniki oceny organoleptycznej i klasyfikacja jakościowa muffin bezglutenowych
 Table 4. Results of organoleptic assessment and qualitative classification of gluten-free muffins

Symbol próby Test symbol	Wyróżniki jakościowe oceny organoleptycznej [pkt] Qualitative features of organoleptic assessment [points]								Suma punktów Total points	Klasa jakości Quality class
	Kształt i wygląd zewnętrzny Shape and external appearance	Smak Taste	Zapach Aroma	Barwa miększu Colour of crumb	Porowatość miększu Crumb porosity	Elastyczność miększu Elasticity of crumb				
G1	4,56 ^{ab} ± 0,25	4,78 ^b ± 0,10	4,44 ^{bc} ± 0,10	4,89 ^b ± 0,19	4,72 ^b ± 0,10	3,89 ^{bc} ± 0,19	27,28 ^b ± 0,25	bardzo dobra very good		
J1	4,44 ^a ± 0,10	4,67 ^b ± 0,10	4,17 ^a ± 0,11	4,33 ^a ± 0,17	4,22 ^{ab} ± 0,35	3,78 ^b ± 0,25	25,61 ^a ± 0,10	dobra / good		
GJ1	4,56 ^a ± 0,10	4,72 ^b ± 0,10	4,28 ^{ab} ± 0,19	4,67 ^{ab} ± 0,17	4,56 ^{ab} ± 0,10	4,28 ^c ± 0,10	27,05 ^b ± 0,25	bardzo dobra very good		
G2	4,67 ^{ab} ± 0,17	4,56 ^{ab} ± 0,25	4,50 ^c ± 0,10	4,61 ^b ± 0,25	4,72 ^b ± 0,10	4,33 ^c ± 0,29	27,39 ^b ± 1,02	bardzo dobra very good		
J2	4,44 ^a ± 0,19	4,11 ^a ± 0,25	4,33 ^{ab} ± 0,10	4,66 ^b ± 0,29	4,28 ^{ab} ± 0,19	3,22 ^a ± 0,25	25,05 ^a ± 0,69	dobra / good		
GJ2	4,33 ^a ± 0,17	4,11 ^a ± 0,19	4,22 ^a ± 0,19	4,11 ^a ± 0,10	3,89 ^a ± 0,35	3,72 ^b ± 0,10	24,39 ^a ± 0,84	dobra / good		

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

Kształt i wygląd zewnętrzny muffin oceniono najwyżej w przypadku produktów gryczanych, zarówno słodkich (4,56 pkt), jak i wytrawnych (4,67 pkt). Zdaniem oceniających wszystkie produkty cechowały się bardzo dobrym lub dobrym smakiem i zapachem. Wyżej oceniono jednak smak muffin słodkich, zaś zapach – tych muffin, w składzie których była mąka gryczana. Barwa i porowatość miększu większości badanych muffin także były zadowalające, gdyż zarówno muffiny słodkie, jak i wytrawne oceniono z reguły powyżej 4 pkt (wyjątek – GJ2 za porowatość).

Jedynie elastyczność miększu w przypadku 4 produktów (G1, J1, J2, GJ2) oceniono poniżej 4 pkt. Jak podają Man i wsp. [9], ciasto, w którym nie ma białek glutenowych, odróżnia się znacznie strukturą od ciasta pszennego. W cieście pszennym ilość i jakość glutenu odgrywa kluczową rolę w kształtowaniu takich cech wyrobów, jak objętość i porowatość miększu, a także jego elastyczność. Stąd też w badanych muffinach bezglutenowych wymienione cechy oceniono dość przeciętnie.

Barwa jest ważnym atrybutem wyrobów piekarskich, ponieważ wpływa na postrzeganie produktu przez konsumenta i decyduje o jego akceptowalności [1].

Tabela 5. Wyniki pomiaru parametrów barwy muffin bezglutenowych w systemie CIE L*a*b*

Table 5. Results of measured colour parameters of gluten-free muffins in CIE L*a*b* system

Symbol próby Test symbol	Parametry barwy / Colour parameters					
	Powierzchnia zewnętrzna External appearance			Miększ / Crumb		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
G1	30,24 ^a ± 0,91	9,40 ^a ± 0,94	8,47 ^a ± 1,56	24,32 ^a ± 2,29	11,47 ^b ± 1,98	14,26 ^a ± 2,59
J1	28,89 ^a ± 0,64	9,13 ^a ± 0,42	7,70 ^a ± 0,56	28,29 ^b ± 3,94	11,08 ^b ± 0,76	14,05 ^a ± 1,78
GJ1	29,12 ^a ± 0,58	9,63 ^a ± 0,41	8,60 ^a ± 0,35	23,86 ^a ± 1,17	10,91 ^b ± 0,33	12,68 ^a ± 0,62
G2	56,65 ^b ± 2,17	9,24 ^a ± 0,86	24,05 ^b ± 1,82	50,97 ^c ± 6,11	8,11 ^a ± 2,04	20,21 ^b ± 0,95
J2	61,60 ^c ± 2,22	10,25 ^a ± 1,27	31,69 ^c ± 1,39	62,25 ^d ± 3,33	7,12 ^a ± 1,19	27,55 ^c ± 0,90
GJ2	57,84 ^{bc} ± 1,42	9,09 ^a ± 2,17	26,27 ^b ± 3,32	56,28 ^{cd} ± 2,03	5,85 ^a ± 0,81	21,18 ^b ± 0,29

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

Stwierdzono, że średnie wartości jasności, jak i współrzędnych chromatyczności powierzchni i miększu słodkich muffin (G1, J1, GJ1) nie były zróżnicowane statystycznie istotnie. Odnotowano jedynie, że miększ muffin jaglanych był jaśniejszy ($L = 28,29$) w porównaniu z miększem pozostałych słodkich muffin. W ocenie parametrów barwy muffin wytrawnych (G2, J2, GJ2) wykazano większy wpływ rodzaju użytej mąki aniżeli w słodkich muffinach. Spośród badanych rodzajów muffin w tej wersji smakowej powierzchnia muffin jaglanych była jaśniejsza ($L = 61,60$) i wyższa była wartość parametru b^* (31,69). Wynik ten wskazuje na większy udział barwy żółtej. W badaniach barwy powierzchni wartość parametru a^* wszystkich rodzajów muf-

fin wytrawnych była na zbliżonym poziomie ($9,09 \div 10,25$). Podobne zróżnicowanie barwy odnotowano także w miększu muffin wytrawnych. Miększu muffin jaglanych (J2) lub z udziałem tej mąki w recepturze (GJ2) był jaśniejszy, odpowiednio: $L = 62,25$ oraz $L = 56,28$, a także – w przypadku produktu otrzymanego z mąki jaglanej (J2) – istotnie większa była wartość parametru b^* ($27,55$), co odróżniało miększu muffin jaglanych od miększu wypieków z udziałem mąki gryczanej. Barwa muffin bezglutenowych była w różnym stopniu zależna od rodzaju użytej mąki oraz innych składników receptury. W przypadku barwy miększu muffin jaglanych podobne wyniki uzyskali wcześniej Goswami i wsp. [6], w tym średnie wartości jasności L^* ($63,51$) oraz parametru b^* ($27,57$), lecz różną wartość parametru a^* ($4,72$). W recepturze muffin słodkich (tab. 1) stosowano jako składnik kakao i było ono w głównej mierze czynnikiem kształtującym barwę tych produktów. Bhaduri [1] oraz Goswami i wsp. [6] wskazują, że skład mieszanki wypiekowej muffin, w tym rodzaj i ilość dodatków smakowych, w istotny sposób wpływa na barwę gotowego produktu.

W muffinach bezglutenowych określono parametry profilu tekstury (tab. 6).

Tabela 6. Wyniki pomiaru parametrów profilu tekstury muffin bezglutenowych

Table 6. Results of texture profile parameters analysis (TPA) of gluten-free muffins

Symbol próby Test symbol	Parametry profilu tekstury / Texture profile parameters					
	Twardość 1 Hardness 1 [N]	Twardość 2 Hardness 2 [N]	Adhezyjność Adhesiveness [mJ]	Kohezyjność Cohesiveness	Elastyczność Elasticity	Żujność Chewiness [N]
G1	$11,06^b \pm 1,73$	$9,59^b \pm 1,73$	$0,44^a \pm 0,11$	$0,38^b \pm 0,03$	$0,81^b \pm 0,07$	$3,52^b \pm 1,22$
J1	$10,11^b \pm 4,05$	$7,78^{ab} \pm 4,64$	$0,39^a \pm 0,22$	$0,32^a \pm 0,02$	$0,71^a \pm 0,13$	$2,23^a \pm 1,21$
GJ1	$7,00^a \pm 0,98$	$5,96^a \pm 0,85$	$0,47^a \pm 0,19$	$0,36^{ab} \pm 0,03$	$0,75^{ab} \pm 0,14$	$1,91^a \pm 0,63$
G2	$10,14^b \pm 1,46$	$9,09^b \pm 1,29$	$0,58^a \pm 0,29$	$0,41^b \pm 0,02$	$0,85^b \pm 0,05$	$3,52^b \pm 0,67$
J2	$20,05^d \pm 2,38$	$17,02^d \pm 2,54$	$0,97^b \pm 0,46$	$0,31^a \pm 0,04$	$0,77^{ab} \pm 0,06$	$4,84^c \pm 1,13$
GJ2	$13,63^c \pm 0,78$	$12,06^c \pm 0,70$	$0,89^b \pm 0,28$	$0,38^b \pm 0,02$	$0,85^b \pm 0,05$	$4,46^c \pm 0,42$

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

Wartości parametru twardości I zawierały się w przedziale $7,00 \div 20,05$ N, zaś wartości twardości II zmierzone w drugim cyklu pomiarowym – w przedziale $5,96 \div 17,02$ N. Jak wykazali Sanz i wsp. [17] w badaniach dotyczących jakości ciast biskopowo-tłuszczowych, powinny one wykazywać jak najmniejszą twardość i żujność oraz wysoką sprężystość, co jest charakterystyczne dla produktów zawierających cukier i tłuszcz. W badaniach własnych wyniki pomiarów tych parametrów były niższe w przypadku muffin słodkich niż muffin wytrawnych, co mogło być skutkiem udziału w recepturze różnych dodatków smakowych. Adhezyjność muffin słodkich (praca niezbędna do pokonania sił przyciągających pomiędzy żywnością a materiałem, z któ-

rym wchodzi w kontakt) była istotnie mniejsza niż muffin wytrawnych. Kohezyjność i elastyczność miękiszu kształtowała się na podobnym poziomie w muffinach uzyskanych z tej samej mąki lub mieszanki mąk bezglutenowych. Porównanie uzyskanych w pracy wyników pomiarów tekstury muffin bezglutenowych z uzyskanymi przez Ziobrę i wsp. [19] dowodzi, że były one skutkiem braku białek glutenowych i tym samym braku możliwości uformowania siatki glutenu w cieście. Ziobro i wsp. [19] wykazali kohezyjność muffin bezglutenowych na poziomie $0,41 \div 0,58$ i elastyczność – $0,83 \div 0,90$, czyli wartości nieznacznie większe niż uzyskane w tej pracy. Z kolei żujność muffin w badaniach tych autorów [19] mieściła się w przedziale $9,3 \div 26,5$ N, zaś żujność muffin jaglanych podana przez Rajiva i wsp. [14] wyniosła 4,8 N, zatem wartości były wyraźnie wyższe niż uzyskane w niniejszej pracy ($1,91 \div 4,84$). Tak znaczne różnice wartości parametrów tekstury badanych muffin i wyników uzyskanych przez ww. autorów wynikają z innego składu recepturowego, w tym także z użycia innych mąk bezglutenowych.

Wnioski

1. Zastosowane w badaniach mąki bezglutenowe można stosować do wytwarzania dobrej jakości muffin o akceptowanych właściwościach organoleptycznych. Istotnie wyżej oceniono jednak muffiny sporządzone na bazie mąki gryczanej i o smaku słodkim.
2. Parametry barwy muffin bezglutenowych były istotnie zróżnicowane w zależności od rodzaju użytej mąki oraz innych składników receptury.
3. Muffiny bezglutenowe istotnie różniły się parametrami tekstury, za wyjątkiem elastyczności miękiszu, co wskazuje na istotny wpływ różnych receptur, jak i zróżnicowaną przydatność użytych surowców do produkcji wyrobu gotowego o pożądanym cechach.
4. Muffiny bezglutenowe wykonane według zaproponowanych receptur mogą stanowić propozycję wyrobów cukierniczych zarówno dla osób na diecie bezglutenowej, jak i konsumentów poszukujących wartościowych i smacznych produktów.

Badania sfinansowano w ramach dotacji Uniwersytetu Rzeszowskiego na utrzymanie potencjału badawczego w roku 2019.

Literatura

- [1] Bhaduri S.: A comprehensive study on physical properties of two gluten-free flour fortified muffins. J. Food Process. Technol., 2013, 4 (8). DOI: 10.4172/2157-7110.1000251.
- [2] Chłopicka J.: Gryka jako żywność funkcjonalna. Bromat. Chem. Toksykol., 2008, 41 (3), 249-252.

- [3] CIE DS 014-4.3/E:2007. Colorimetry. Part 4: CIE 1976 L*a*b* Colour Space.
- [4] Czerwińska D.: Wartość odżywcza i wykorzystanie prosa. *Przegl. Zboż.-Młyn.*, 2010, 10, 11-12.
- [5] Diowks A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Rola błonnika pokarmowego w kształtowaniu cech funkcjonalnych ciasta i chleba bezglutenowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 2 (63), 83-93.
- [6] Goswami D., Gupta R.K., Mridula D., Sharma M., Tyagi S.K.: Barnyard millet based muffins: Physical, textural and sensory properties. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2015, 64(1), 374-380.
- [7] Hoffmann M, Jędrzejczyk H.: Żywność bezglutenowa – legislacja i aspekty technologiczne jej produkcji. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2007, 1, 67-69.
- [8] Jakubczyk T., Haber T. (Red.): *Analiza zbóż i przetworów zbożowych*. Wyd. SGGW-AR, Warszawa 1983.
- [9] Man S., Păucean A., Muste S., Pop A.: Studies on the formulation and quality characteristics of gluten free muffins. *J. Agroaliment. Proc. Technol.*, 2014, 20 (2), 122-127.
- [10] Marciniak-Łukasiak K., Dłużewska E.: Pseudozboża w żywności bezglutenowej. *Przem. Spoż.*, 2018, 72 (9), 46-50.
- [11] Papadakis S.E., Abdul-Malek S., Kamdem R.E., Yam K.L.: A versatile and inexpensive technique for measuring color of foods. *Food Technol.*, 2000, 54 (12), 48-51.
- [12] Paprocki J.: Żywność bezglutenowa – co mówi prawo? *Przegl. Piek. i Cukier.*, 2017, 8(65), 37.
- [13] PN-A-88115:1998. Wyroby ciastkarskie. Wyroby biszkoptowe i biszkoptowo-tłuszczowe.
- [14] Rajiv J., Soumya C., Indrani D., Venkateswara Rao G.: Effect of replacement of wheat flour with finger millet flour (*Eleusine cormana*) on the batter microscopy, rheology and quality characteristics of muffins. *J. Texture Stud.*, 2011, 42 (6), 478-489.
- [15] Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) nr 828/2014 z dnia 30 lipca 2014 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat nieobecności lub zmniejszonej zawartości glutenu w żywności. *Dz. U. L* 228, ss. 5-8, z 31.07.2014.
- [16] Rybicka I.: Zmiany na rynku żywności bezglutenowej. *Przem. Spoż.*, 2014, 68 (8), 32-35.
- [17] Sanz T., Salvador A., Baixauli R., Fiszman S.M.: Evaluation of four types of resistant starch in muffins. II. Effects in texture, colour and consumer response. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, 229 (2), 197-204.
- [18] Słowik E.: Charakterystyka technologiczna surowców bezglutenowych. *Przegl. Zboż.-Młyn.*, 2017, 4, 26-28.
- [19] Ziobro R., Litwinek D., Mickowska B.: Porównanie składu chemicznego i właściwości teksturalnych muffin z mieszanki bezglutenowej i mąk owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, 1 (98), 131-142.

QUALITY ASSESMENT OF GLUTEN-FREE MUFFINS FROM MILLET AND BUCKWEAT FLOURS

S u m m a r y

The only way to treat celiac disease, gluten-dependent celiac disease or gluten enteropathy, is to completely eliminate gluten proteins from foods, and this entails a strict adherence to a gluten-free diet. The objective of the research study was to develop a recipe for gluten-free muffins and to compare the quality of buckwheat, millet and buckwheat-millet muffins produced in two flavour variants: sweet and dry taste. The quality tests of muffins comprised the assessment of their external appearance and crumb, measurement of colour parameters, analysis of texture profile parameters (TPA) and organoleptic assessment. Under the organoleptic assessment of sweet muffins, the buckwheat and buckwheat-millet muffins scored

the best and as regards the dry tasting muffins, the buckwheat muffins were rated the highest and they were classified as a very good quality class. The quality of other muffins was classified as good. The colour of the analysed gluten-free muffins depended, to a varying degree, on the type of flour used and on other ingredients of the recipe. The crumbs of the tested muffins were of a similar elasticity while other parameters of their texture were significantly different. Based on the results obtained, it was found that the gluten-free flours tested and also their blends can be used to produce muffins of a good organoleptic quality and they might raise interest of consumers looking for valuable, tasty and, in the first place, dietary cereal products.

Key words: gluten-free muffins, millet flour, buckwheat flour, TPA, organoleptic assessment 

AGNIESZKA DUDKIEWICZ, BARTŁOMIEJ KOŹNIEWSKI,
ANNA SZYMAŃSKA

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII BLISKIEJ PODCZERWIENI DO ANALIZY WARTOŚCI ODŻYWCZEJ PRODUKTÓW GARMAŻERYJNYCH I MAKARONÓW DOSTĘPNYCH NA POLSKIM RYNKU

Streszczenie

Celem pracy była ocena przydatności techniki spektroskopii bliskiej podczerwieni (NIR) do analizy wartości odżywczej produktów garmażeryjnych i makaronów dostępnych na polskim rynku. Ocenę przeprowadzono na podstawie porównania wyników wartości odżywczej podanych przez NIR z wynikami analiz laboratoryjnych. Urządzenie NIR skalibrowano w odniesieniu do trzech rodzajów produktów: 1) produkty garmażeryjne z mięsem typu kokiety, pierogi, pyzy, tortille, 2) produkty garmażeryjne z serem typu pierogi z serem i ruskie, naleśniki z serem, leniwe, knedle z serem, 3) produkty garmażeryjne inne typu pyzy ziemniaczane, kopytka, kluski na parze, naleśniki bez dodatków, a także makarony po ugotowaniu. Kalibrację wykonano poprzez korelację widm NIR z wynikami analiz laboratoryjnych poszczególnych rodzajów produktów i składników chemicznych.

Wykazano, że jakość pomiaru była do zaakceptowania w odniesieniu do składników chemicznych: woda, białko, tłuszcz, węglowodany, składniki mineralne jako popiół, błonnik i kwasy tłuszczowe nasycone, przynajmniej w przypadku dwóch rodzajów produktów poddanych analizie. Dla żadnego z analizowanych rodzajów produktów nie uzyskano satysfakcjonujących wyników dotyczących cukrów (prostych i dwucukrów) oraz soli (NaCl). Mała dokładność pomiaru NIR tych składników chemicznych mogła wynikać z niskiego lub mało zróżnicowanego poziomu badanej substancji, właściwego danemu rodzajowi produktu lub słabej interakcji danego składnika z promieniowaniem NIR, co utrudnia jego wykrycie. Na podstawie wyników można stwierdzić, że metoda NIR jest przydatna do poprawnej predykcji większości składników chemicznych składających się na wartość odżywczą, które należy deklarować na opakowaniach produktów garmażeryjnych i makaronów. Może stanowić dobrą alternatywę dla kosztownych i czasochłonnych analiz laboratoryjnych.

Słowa kluczowe: spektroskopia bliskiej podczerwieni (NIR), wartość odżywcza, produkty garmażeryjne, chemometria, kalibracja NIR

Wprowadzenie

Spektroskopia bliskiej podczerwieni (NIR) jest szeroko stosowana w przemyśle spożywczym. Świadczy o tym zarówno dostępność aparatów NIR przeznaczonych do analizy surowców i produktów spożywczych, jak i wzrastająca w ostatniej dekadzie liczba wydawanych norm ISO dotyczących zastosowania spektroskopii NIR do analizy składników chemicznych, np. tłuszczu, białka i wody w mięsie lub wilgotności i zawartości białka w ziarnie zbóż [20, 22]. Metoda NIR charakteryzuje się wieloma zaletami w porównaniu z klasycznymi i instrumentalnymi technikami analizy chemicznej, rutynowo stosowanymi do oznaczania wartości odżywczej żywności. Do głównych zalet metody należą: brak zużycia próbki, szybkość oznaczania, minimalny wkład pracy w przygotowanie próbki, brak zużycia i utylizacji substancji chemicznych obciążających środowisko i stanowiących ryzyko dla zdrowia [5, 8, 13]. Pomimo takiej przewagi nad metodami stosowanymi w laboratoriach analitycznych, NIR cechuje się pewnymi ograniczeniami. Wymagana jest kalibracja uwzględniająca każdy rodzaj produktu, a do przeprowadzenia kalibracji potrzeba przynajmniej kilkudziesięciu próbek, w których poziom mierzonych właściwości jest znany. Ograniczenie to spowalnia poszerzanie stosowania metody zwłaszcza w przypadku złożonych produktów spożywczych, jakimi są np. produkty garmażeryjne.

Rynek produktów garmażeryjnych jest bardzo zróżnicowany i charakteryzuje się zmiennością geograficzną. Spożycie tych produktów wzrasta w krajach rozwiniętych, w tym w Polsce, a producenci w większości krajów są zobligowani do umieszczenia informacji o wartości odżywczej produktu na jego etykiecie [25, 28]. Z kolei względy jakościowe przesądają o konieczności monitorowania surowców i wyrobów w trakcie produkcji [10]. Wzrasta zatem zapotrzebowanie na szybkie i tanie metody analizy składu chemicznego produktów garmażeryjnych, takie jak NIR [9].

Widma NIR są złożonymi sygnałami elektromagnetycznymi pochodzącymi z wibracji wiązań chemicznych wzbudzonych przez promieniowanie w zakresie długości fali $780 \div 2500$ nm [3]. Najwyraźniejsze pasma adsorpcyjne w widmie NIR odpowiadają wiązaniom wodoru z innymi lekkimi atomami, takimi jak węgiel, tlen czy azot, dlatego metodę często stosuje się do oznaczania białek i tłuszczów, a także wody [5]. Z drugiej strony pomiar składników chemicznych nieorganicznych – chlorku sodu i związków mineralnych w postaci popiołu – za pomocą NIR może stwarzać problemy ze względu na brak interakcji z promieniowaniem w zakresie bliskiej podczerwieni. Zawartość tych substancji jest przewidywana pośrednio, np. poprzez inne komponenty wchodzące w interakcje z substancją mierzoną lub takie, których zawartość koreluje z zawartością substancji mierzonej [14]. Taki pośredni sposób detekcji może skutkować zmniejszeniem czułości metody. Czułość NIR stanowi problem przy oznaczaniu niektórych składowych wartości odżywczej wymienionych w rozporządzeniu UE Nr 1169/2011 [25]. Ogólnie przyjętą granicą oznaczalności dla metody jest 0,5 % zawar-

tości substancji mierzonej w próbce [17]. Oznacza to większą niepewność pomiaru i możliwy problem z oznaczeniem składników występujących w żywności zazwyczaj w małych ilościach, takich jak: sól (NaCl), związki mineralne w postaci popiołu, kwasy tłuszczowe nasycone, błonnik i cukry.

W literaturze przedmiotu znajdują się raporty dotyczące oznaczania poszczególnych składników odżywczych z wykorzystaniem metody NIR, jednak w niewielu z nich skupiono się na pełnej charakterystyce wartości odżywczej produktów spożywczych w rozumieniu Rozporządzenia UE Nr 1169/2011 [25].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności techniki spektroskopii bliskiej podczerwieni (NIR) do analizy wartości odżywczej produktów garmażeryjnych i makaronów dostępnych na polskim rynku.

Material i metody badań

Do badań użyto 210 różnych próbek wyrobów garmażeryjnych i makaronów zakupionych w lokalnych sklepach spożywczych. Próbki zostały podzielone na 3 rodzaje produktów:

- 1) produkty garmażeryjne z mięsem typu kromki, pierogi, pyzy, tortille (GM),
- 2) produkty garmażeryjne z serem typu pierogi z serem i ruskie, naleśniki z serem, leniwe, knedle z serem (GS),
- 3) produkty garmażeryjne inne, typu pyzy ziemniaczane, kopytka, kluski na parze, naleśniki bez dodatków, a także makarony po ugotowaniu (GI).

Zakupione produkty były zarówno w postaci mrożonej, jak i gotowej do podgrzania lub spożycia.

Wszystkie próbki homogenizowano w młynku laboratoryjnym (GRINDOMIX GM 200, Retsch, Niemcy), a następnie poddawano badaniu metodą NIR przy użyciu FoodScanTM Lab (FOSS, Dania), sterowanym oprogramowaniem ISIScanTM (FOSS, Dania). Do badań zastosowano kompatybilne z instrumentem kuwety ze szklanym okienkiem o średnicy 14 cm. Kuwety wypełniano homogenną próbką o objętości ok. 120 cm³. Uzyskane widma mieściły się w zakresie długości fal 850 ÷ 1050 nm.

Bezpośrednio po badaniu metodą NIR próbki przekazywano do analizy w akredytowanym laboratorium. Analizy były przeprowadzane metodami podanymi w tab. 1.

Po przypisaniu wartości składników oznaczonych w laboratorium do odpowiadających im widm NIR wykonywano chemometryczną obróbkę widm i kalibracje w programie WinISI 4 (FOSS, Dania). Kalibracje przeprowadzano wykorzystując 60 z 70 dostępnych próbek każdego rodzaju produktu. Dokonywano obróbki matematycznej Modified PLS (zmodyfikowana metoda cząstkowych najmniejszych kwadratów). Wykonano po cztery kalibracje każdego składnika chemicznego i każdego rodzaju produktu: jedną na widmie surowym, a trzy pozostałe na kolejnych pochodnych matematycznych. Przy wykonywaniu każdej kalibracji testowano również opcję odrzucenia

punktów odstających poprzez monitorowanie wpływu takiej obróbki na parametry określające jakość otrzymanywanych modeli matematycznych. Oceny i wyboru optymalnych kalibracji dokonywano na podstawie współczynnika determinacji (R^2) i średniego błędu kwadratowego predykcji NIR (RMSEP) dla zbioru prób kalibracyjnych. Wybrano kalibracje charakteryzujące się najwyższym R^2 i najniższym RMSEP, które przedstawiono w niniejszej pracy.

Tabela 1. Zastosowane metody badań laboratoryjnych wraz z niepewnością pomiaru

Table 1. Applied methods of laboratory analyses including measurement uncertainty

Składnik chemiczny Chemical component	Źródło metody Source of method	Niepewność rozszerzona Expanded uncertainty [%]
Woda / Water	PN-A-82100:1985 [19]	10
Białko / Protein	PN-A-04018:1975 [18]	5
Tłuszcz / Fat	PN-ISO 1444:2000 [24]	10
Węglowodany / Carbohydrates	Rozporządzenie UE Nr 1169/2011 [25]	-
Błonnik / Fibre	Metoda enzymatyczna [15]	15
Cukry / Sugars	PN-A-82100:1985 [19]	15
Kwasy tłuszczowe nasycone Saturated fatty acids	PN-EN ISO 12966-4:2015-07 [23]	20
Popiół / Ash	PN-A-82100:1985 [19]	15
Sól / Salt (NaCl)	Metoda ICP-OES [21] i Rozporządzenia UE Nr 1169/2011 [25]	10

Objaśnienia / Explanatory notes:

Cukry i węglowodany w niniejszej pracy odpowiadają definicjom podanym w Rozporządzeniu UE nr 1169/2011 [25]. Przez cukry należy rozumieć cukry proste i dwucukry, natomiast węglowodany to cukry, alkohole wielowodorotlenowe i skrobia. / Sugars and carbohydrates in this study correspond with the definitions as outlined in the EU regulation No. 1169/2011 [25]. By sugars are meant simple sugars and disaccharides, while carbohydrates are sugars, polyols and starch. „Popiół” jako składnik chemiczny produktów jest sformułowaniem uproszczonym. Pod tym pojęciem należy rozumieć związki mineralne w postaci popiołu / „Ash” as a chemical component of the products is a simplistic term. This term should be understood as mineral compounds in the form of ash.

W celu porównania otrzymanych modeli matematycznych z kryteriami i danymi opublikowanymi w literaturze posłużono się błędem kwadratowym walidacji krzyżowej (RMSECV) i stosunkiem odchylenia standardowego (SD) mierzonych składników chemicznych do RMSEP (RPD).

Pozostałe 10 z 70 próbek, których nie użyto w kalibracji, stanowiło zbiór walidacyjny, na podstawie którego wyliczono poprawność metody:

$$U_p = 2 \times \frac{SD_p}{\sqrt{n}}$$

gdzie:

U_p – poprawność (jako niepewność rozszerzona),

SD_p – odchylenie standardowe wartości poprawności pomiarów stanowiącej procentowy stosunek wartości wskazanej przez NIR do wartości zmierzonej w laboratorium,

n – liczba próbek.

Poprawność została wyliczona po odrzuceniu z puli wyników danych, które wykraczały poza zakres analityczny. Zakres analityczny dla każdego rodzaju produktu i analizowanego składnika chemicznego został wyznaczony pomiędzy 10 i 90 percentylem wyników analiz laboratoryjnych użytych w kalibracji. Jeśli wartość 10 percentyla była mniejsza niż 0,5 %, to te 0,5 % przyjmowano jako dolną granicę tego zakresu.

Uzyskane wyniki poprawności zostały wykorzystane do oceny przydatności metody NIR do analizy składników chemicznych składających się na wartość odżywczą w produktach garmażeryjnych i makaronach. Jako kryterium oceny przydatności przyjęto, że poprawność nie powinna przekraczać 150 % wartości deklarowanej przez laboratorium dla niepewności rozszerzonej oznaczanego składnika chemicznego.

Wyniki i dyskusja

Wyniki analiz laboratoryjnych wraz z ustalonymi dla poszczególnych rodzajów produktów zakresami analitycznymi NIR przedstawiono w tab. 2. Średnia zawartość soli w produktach GI i GS nie przekraczała 0,5 %. We wszystkich pozostałych rodzajach produktów zawartość składników chemicznych wynosiła powyżej 0,5 %, a więc przekraczała ogólnie przyjętą dla metody NIR granicę oznaczalności [17].

Wartości parametrów, na których podstawie dokonano oceny kalibracji, przedstawiono w tab. 3. Zakres R^2 otrzymanych kalibracji wynosił 0,102 ÷ 0,991. Najwyższe wartości współczynników determinacji odnosiły się do wszystkich makroskładników, wody i kwasów tłuszczowych nasyconych ($\geq 0,865$), natomiast najniższe – do błonnika (0,102 ÷ 0,436). W przypadku popiołu i soli oraz cukrów w próbach GM i GI odnotowano pośrednie wartości R^2 (0,631 ÷ 0,919), jedynie kalibracja cukrów w produktach GS charakteryzowała się R^2 wyższym, tj. 0,941.

W źródłach literaturowych wartości współczynników determinacji makroskładników i różnych grup kwasów tłuszczowych w powiązaniu z widmami NIR są zwykle wysokie, powyżej 0,9 [1, 4 - 6]. Tak wysokie wartości osiąga się również w przypadku analizy związków mineralnych w postaci popiołu w mięsie, ale w innych produktach, np. zbożowych – już niższe (przykładowo 0,653 w otrębach ryżowych i 0,730 w mące z komosy ryżowej) [2, 7]. Kalibracje NIR dotyczące błonnika, cukrów i soli także mogą charakteryzować się wysokimi wartościami R^2 ($> 0,9$). Większość danych literatu-

rowych odnoszących się do takich przypadków bazuje jednak na produktach o dużej zawartości wymienionych składników, średnio ok. 5 - 10 razy większej niż w produktach garmażeryjnych użytych w niniejszych badaniach [11, 12, 16, 26]. W niniejszej pracy zaobserwowano wpływ zawartości danego składnika chemicznego na wartość R^2 danej kalibracji. Przykładem są cukry, a najwyższy współczynnik determinacji dotyczył produktów GS, w których średnia zawartość tego składnika była na poziomie niespełna dwukrotnie wyższym niż w pozostałych dwóch rodzajach produktów (tab. 2).

Tabela 2. Charakterystyka próbek trzech wybranych rodzajów produktów oraz wyznaczony zakres analityczny NIR

Table 2. Profile of samples of three selected groups of products and analytical range fixed for NIR

Zawartość składników chemicznych Content of chemical components [%]	GM		GS		GI	
	$\bar{X} \pm SD$	Z	$\bar{X} \pm SD$	Z	$\bar{X} \pm SD$	Z
Woda / Water	57,3 ± 8,0	48,6 ÷ 69,2	59,2 ± 5,7	52,3 ÷ 67,4	62,4 ± 10,4	53,9 ÷ 72,8
Białko / Protein	8,2 ± 3,2	4,1 ÷ 12,1	7,5 ± 2,1	4,9 ÷ 10,7	4,4 ± 2,6	1,6 ÷ 8,4
Tłuszcz / Fat	7,2 ± 3,8	3,3 ÷ 12,6	3,0 ± 1,7	1,1 ÷ 4,8	2,2 ± 3,7	0,5 ÷ 7,9
Węglowodany Carbohydrates	25,4 ± 5,1	19,8 ÷ 31,5	29,4 ± 4,6	22,9 ÷ 36,1	30,2 ± 7,3	22,6 ÷ 38,0
Błonnik / Fibre	2,3 ± 0,7	1,5 ÷ 3,5	1,9 ± 0,9	1,0 ÷ 3,0	2,3 ± 1,0	1,3 ÷ 3,8
Cukry / Sugars	2,2 ± 1,8	0,6 ÷ 4,8	4,2 ± 3,3	0,9 ÷ 8,5	2,5 ± 3,3	0,6 ÷ 6,5
Kwasy tłuszczowe nasycone / Saturated fatty acids	2,3 ± 1,1	1,1 ÷ 3,8	1,0 ± 0,9	0,5 ÷ 2,1	0,8 ± 1,6	0,5 ÷ 2,2
Popiół / Ash	1,4 ± 0,5	0,8 ÷ 2,1	1,0 ± 0,5	0,5 ÷ 1,7	0,9 ± 0,6	0,5 ÷ 1,7
Sól / Salt (NaCl)	0,7 ± 0,4	0,5 ÷ 1,2	0,5 ± 0,3	0,5 ÷ 1,0	0,4 ± 0,4	0,5 ÷ 1,0

Objaśnienia / Explanatory notes:

GM – produkty garmażeryjne z mięsem / deli products with meat; GS – produkty garmażeryjne z serem / deli products with quark; GI – produkty garmażeryjne inne / other deli products; $\bar{X} \pm SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; Z – zakres analityczny NIR / analytical range for NIR. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Wartości błędu kwadratowego walidacji krzyżowej (RMSECV) w przypadku wszystkich rodzajów produktów i składników chemicznych nie przekraczały 2 %. Inni autorzy opisują różne wyniki RMSECV, od znacznie poniżej 1 do nawet 5, jednak ważną cechą przy ewaluacji tego parametru jest jego stosunek do wartości mierzonej [6, 27]. W niniejszej pracy wartości RMSECV nie przekraczały 20 % wartości średniej

wszystkich makroskładników i wody niezależnie od rodzaju produktu, natomiast dotyczące cukrów i soli przekraczały 30 % wartości średniej.

Tabela 3. Parametry opisujące jakość wykonanych kalibracji

Table 3. Parameters descriptive of quality of calibrations performed

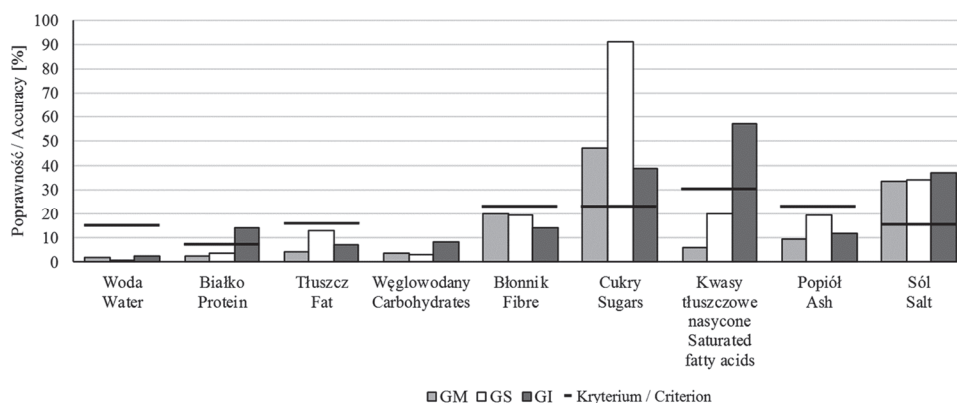
Składnik chemiczny Chemical component	R ²			RMSECV [%]			RPD [kalibracja] [calibration]			RPD [walidacja] [validation]		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Woda / Water	0,985	0,961	0,991	1,02	1,27	1,54	2,3	5,0	10,5	5,9	2,6	3,1
Białko / Protein	0,920	0,964	0,957	1,06	0,47	0,80	3,5	5,3	4,8	7,1	2,5	0,6
Tłuszcz / Fat	0,972	0,980	0,976	0,68	0,26	0,42	17,2	5,7	6,5	8,5	2,3	2,5
Węglowodany Carbohydrates	0,946	0,928	0,970	1,39	1,49	1,46	4,3	3,7	1,7	2,9	4,2	2,7
Błonnik / Fibre	0,347	0,436	0,102	0,66	0,56	0,62	1,2	1,2	1,0	0,9	0,5	0,7
Cukry / Sugars	0,674	0,941	0,631	1,44	1,28	1,76	1,7	2,6	1,5	1,4	1,2	1,5
Kwasy tłuszczowe nasycone Saturated fatty acids	0,905	0,914	0,975	0,41	0,25	0,48	3,2	4,3	6,1	4,3	0,9	0,6
Popiół / Ash	0,738	0,866	0,919	0,30	0,21	0,31	2,0	2,7	3,6	1,1	1,0	0,4
Sól / Salt (NaCl)	0,683	0,869	0,861	0,29	0,15	0,19	1,8	2,7	1,4	0,6	0,6	0,3

Objaśnienia / Explanatory notes:

I – produkty GM / GM products, II – produkty GS / GS products, III – produkty GI / GI products. R² – współczynnik determinacji / coefficient of determination, RMSECV – błąd kwadratowy walidacji krzyżowej / mean squared error of cross-validation, RPD – stosunek odchylenia standardowego do średniego błędu kwadratowego predykcji / ratio of the standard deviation to the mean squared error of the prediction. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. i 2. / Other explanatory notes as in Tab. 1 and 2.

Oceny jakości kalibracji można dokonać na podstawie wartości parametru RPD. W literaturze sugeruje się, że kalibracje charakteryzujące się RPD w zakresie 2,5 ÷ 5 mogą być wykorzystywane do wykrywania danej substancji (klasa I), 5 ÷ 10 – do aplikacji przy kontroli jakości (klasa II), > 10 – charakteryzują się bardzo dużą zdolnością do predykcji zawartości mierzonej cechy lub substancji (klasa III) [11]. Zgodnie z przyjętymi kryteriami, na podstawie RPD wyliczonych dla kalibracji, uzyskano dwie kalibracje klasy III, pięć kalibracji klasy II i dziesięć kalibracji klasy I. Pozostałe dziewięć kalibracji charakteryzowało się wartościami RPD < 2,5. Małe wartości RPD zarówno w zbiorze prób kalibracyjnych, jak i walidacyjnych dotyczyły głównie składników chemicznych, które występowały w produktach garmażeryjnych na poziomach do kilku procent. W innych badaniach autorzy również otrzymywali małe wartości RPD modeli ocenionych pozytywnie, np. 1,7 – w przypadku kalibracji NIR służącej do pomiaru zawartości białka w koncentratkach białek serwatkowych [27]. RPD zależy nie

tylko od błędu kalibracji, ale również od odchylenia standardowego oznaczanych parametrów. Jeśli badany parametr charakteryzuje się niewielką zmiennością, to RPD nie jest obiektywnym wskaźnikiem jakości kalibracji. W niniejszej pracy oceniono zatem użyteczność metody NIR do pomiaru komponentów wartości odżywczej produktów garmażeryjnych i makaronów poprzez porównanie poprawności pomiarów prób walidacyjnych z kryterium oszacowanym na podstawie niepewności rozszerzonej deklarowanej przez laboratorium. Wyniki przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Poprawność NIR i kryteria oceny użyteczności metody do pomiaru wartości odżywczej badanych rodzajów produktów

Fig. 1. Accuracy of NIR and assessment criteria of method suitability for measuring nutritional composition of product groups studied

Większość przygotowanych kalibracji NIR (dotyczących wody, tłuszczu, błonnika i popiołu) pozwoliła na uzyskanie pomiarów spełniających zadane kryterium poprawności pomiaru. Białko i kwasy tłuszczowe nasycone również zostały oszacowane z zadowalającą poprawnością w produktach GM i GS. W przypadku węglowodanów nie ustalono kryterium, ponieważ jest to składnik chemiczny uzyskiwany z wyliczeń, niepodlegający walidacji w laboratorium, jednak przy pomiarze NIR badanych rodzajów produktów jego poprawność wynosiła poniżej 10 %, zatem również była akceptowalna. W przypadku cukrów i soli nie uzyskano zadowalających wyników poprawności NIR dla żadnego z badanych rodzajów produktów. Duży błąd pomiaru przy analizie tych składników był prawdopodobnie spowodowany małymi ich stężeniami w analizowanych próbkach. Mała zawartość mierzonych składników wiąże się z większą niepewnością pomiaru nie tylko NIR, ale również analiz laboratoryjnych. Być może przy większej liczbie prób o większej zawartości cukrów i soli można by uzyskać zadowalające wyniki również dla tych kalibracji.

Wnioski

1. Wykonane kalibracje pozwoliły na poprawny pomiar zawartości wody, białka, tłuszczu, węglowodanów, błonnika, kwasów tłuszczowych nasyconych i związków mineralnych w postaci popiołu dla co najmniej dwóch rodzajów analizowanych produktów.
2. W przypadku cukrów i soli nie uzyskano zadowalających wyników poprawności NIR dla żadnego z badanych rodzajów produktów. Poprawa jakości kalibracji tych składników odżywczych wymaga dalszych badań.
3. Metoda NIR jest dobrą alternatywą dla kosztownych i czasochłonnych laboratoryjnych metod pomiaru wartości odżywczej produktów garmażeryjnych i makaronów. Ponadto nie wymaga ona zastosowania niebezpiecznych substancji chemicznych. Przewiduje się, że zastosowanie aparatów NIR do kontroli jakości wyrobów w przemyśle spożywczym będzie nadal wzrastało.

Podziękowania

Autorzy niniejszej publikacji dziękują panu Stanisławowi Kosowi z firmy FOSS za wsparcie merytoryczne dotyczące oprogramowania i sprzętu NIR.

Badania zostały dofinansowane z Funduszy Europejskich z projektu pt. „Nowe metody badawcze JARS Sp. z o.o.” w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Mazowieckiego 2014 – 2020. Projekt zrealizowany w ramach pierwszej Osi Priorytetowej RPO WM, Działanie 1.2 Działalność badawczo-rozwojowa przedsiębiorstw.

Literatura

- [1] Azizian H., Kramer J.: A rapid method for the quantification of fatty acids in fats and oils with emphasis on trans fatty acids using Fourier Transform near infrared spectroscopy (FT-NIR). *Lipids*, 2005, 40, 855-867.
- [2] Bagchi T.B., Sharma S., Chattopadhyay K.: Development of NIRS models to predict protein and amylose content of brown rice and proximate compositions of rice bran. *Food Chem.*, 2016, 191, 21-27.
- [3] Blanco M., Villarroya I.: NIR spectroscopy: A rapid-response analytical tool. *TrAC*, 2002, 21, 240-250.
- [4] Cama-Moncunill R., Markiewicz-Keszycka M., Dixit Y., Cama-Moncunill X., Casado-Gavaldà M.P., Cullen P.J., Sullivan C.: Multipoint NIR spectroscopy for gross composition analysis of powdered infant formula under various motion conditions. *Talanta*, 2016, 154, 423-430.
- [5] Deng Y., Wang Y., Zhong G., Yu X.: Simultaneous quantitative analysis of protein, carbohydrate and fat in nutritionally complete formulas of medical foods by near-infrared spectroscopy. *Infrared Phys. Technol.*, 2018, 93, 124-129.

- [6] Dixit Y., Casado-Gavalda M.P., Cama-Moncunill R., Cama-Moncunill X., Markiewicz-Keszycka M., Cullen P.J., Sullivan C.: Developments and challenges in online NIR spectroscopy for meat processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2017, 16, 1172-1187.
- [7] Encina-Zelada C., Cadavez V., Pereda J., Gómez-Pando L., Salvá-Ruiz B., Ibañez M., Ibanez M., Teixeira J.A., Gonzales-Barron U.: Estimation of Proximate Composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) Flour by Near-Infrared Transmission Spectroscopy. *Int. Congress on Engineering and Sustainability in the XXI Century, Algarve-Faro, Portugal, 2017, October*, pp. 227-235.
- [8] Firmani P., La Piscopia G., Bucci R., Marini F., Biancolillo A.: Authentication of P.G.I. Gragnano pasta by near infrared (NIR) spectroscopy and chemometrics. *Microchem. J.*, 2020, 152, #104339.
- [9] Jia B., Yao Y., Liu J., Guan W., Brennan C.S., Brennan M.A.: Physical properties and *in vitro* starch digestibility of noodles substituted with tartary buckwheat flour. *Starch-Starke*, 2019, 71, #1800314.
- [10] Huang H., Yu H., Xu H., Ying Y.: Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *J. Food Eng.*, 2008, 87, 303-313.
- [11] Huang Y., Rogers T.M., Wenz M.A., Cavinato A.G., Mayes D.M., Bledsoe G.E., Rasco B.A.: Detection of sodium chloride in cured salmon roe by SW-NIR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 4161-4167.
- [12] Kays S.E., Barton F.E.: Near-infrared analysis of soluble and insoluble dietary fiber fractions of cereal food products. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 3024-3029.
- [13] Lucarini M., Durazzo A., Kiefer J., Santini A., Lombardi-Boccia G., Souto E.B., Romani A., Lampe A., Ferrari Nicoli S., Gabrielli P., Bevilacqua N., Campo M., Morassut M., Cecchini F.: Grape seeds: Chromatographic profile of fatty acids and phenolic compounds and qualitative analysis by FTIR-ATR spectroscopy. *Foods*, 2019, 9(1), #10.
- [14] Manley M.: Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: Non-destructive analysis of biological materials. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, 43, 8200-8214.
- [15] Megazyme: Total Dietary Fibre Assay Kit [on line]. Megazyme. Dostęp w Internecie [2.01.2020]: <https://secure.megazyme.com/Total-Dietary-Fiber-Assay-Kit>
- [16] Neves M.D.G., Poppi R.J., Siesler H.W.: Rapid determination of nutritional parameters of pasta/sauce blends by handheld near-infrared spectroscopy. *Molecules*, 2019, 24(11), #2029.
- [17] Pasquini C.: Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review. *Anal. Chim. Acta*, 2018, 1026, 8-36.
- [18] PN-A-04018:1975. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [19] PN-A-82100:1985. Wyroby garmazeryjne. Metody badań chemicznych.
- [20] PN-A-82109:2010. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu, białka i wody. Metoda spektrometrii transmisyjnej w bliskiej podczerwieni (NIT) z wykorzystaniem kalibracji na sztucznych sieciach neuronowych (ANN).
- [21] PN-EN 13804:2013-06. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie pierwiastków śladowych i ich form chemicznych. Uwagi ogólne i wymagania szczegółowe.
- [22] PN-EN 15948:2015-05. Ziarno zbóż. Oznaczanie wilgotności i zawartości białka. Metoda z zastosowaniem spektroskopii w bliskiej podczerwieni w całym ziarnie.
- [23] PN-EN ISO 12966-4:2015-07. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 4: Oznaczanie techniką kapilarną chromatografii gazowej.
- [24] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [25] 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 uchylecia 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. UE L 304, ss. 18-63, z 22.11.2011, z późn. zm.
- [26] Wang T., Rodriguez-Saona L.E.: Rapid determination of sugar level in snack products using infrared spectroscopy. *J. Food. Sci.*, 2012, 77, 874-879.
- [27] Wójcicki K.: Applying NIR spectroscopy to evaluate quality of whey protein supplements available on the Polish market. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2018, 2 (115), 59-70.
- [28] Zielińska H., Zieliński K.: Spożycie żywności w Polsce. Tendencje i determinanty zmian. *Nierówności Społeczne a Wzrost Gospodarczy*, 2004, 5, 105-118.

APPLICATION OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY TO ANALYSE NUTRITIONAL VALUE OF DELI PRODUCTS AND PASTAS AVAILABLE ON POLISH MARKET

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the suitability of near infrared spectroscopy (NIR) for the analysis of nutritional value of deli products and pastas available on the Polish market. The assessment was made on the basis of the comparison between the NIR and laboratory analysis results of nutritional values. The NIR instrument was calibrated for the three groups of products: 1) deli products with meat, such as croquettes, pierogi (dumplings with various fillings), pyzy (potato dumplings), tortillas; 2) deli products with quark, such as pierogi with quark and ruskie pierogi (dumplings with quark and potato), crepes with quark, leniwe (sweet dumplings), knödels (fruit dumplings); 3) other deli products such as potato dumplings, steamed dumplings, crepes without a filling and also cooked pasta. The calibrations were performed by correlating the NIR spectra with the results of laboratory analyses for each product group and chemical components.

It was shown that at least for two analysed groups of products, the measurement quality was acceptable as regards the following chemical components: water, protein, fat, carbohydrates, mineral components in the form of ash, fibre and saturated fatty acids. No satisfactory results were obtained for sugars (mono- and disaccharides) and salt (NaCl). The low accuracy of NIR measurements of those chemical components could result from a low or insufficiently differentiated, substance-specific level of the measured substance in a given group of the products or from a low interaction of that compound with the near-infrared radiation, which makes it difficult to detect it. Based on the results presented, it can be concluded that the NIR method is suitable for the accurate prediction of the majority of chemical components, which make up the nutritional value and which should be stated on the label of deli products and pastas. It can be a good alternative to cost and time-consuming laboratory analyses.

Key words: near-infrared spectroscopy (NIR), nutritional value, deli products, chemometrics, NIR calibration 

WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA,
KATARZYNA KAJAK-SIEMASZKO, PIOTR SAŁEK, MATEUSZ LUBAŃSKI

AN ASSESSMENT OF MEAT PRODUCTS WITH ADDED SELECTED BIOACTIVE SUBSTANCES

S u m m a r y

Implementation of bioactive antioxidant compounds into the product can enhance the product quality and extend the shelf-life of meat and meat products. The aim of the study was to evaluate the effect of fish oil, lyophilisate of tomato concentrate and thyme extract additives on the oxidation stability, colour parameters and sensory quality of the meat product during its storage. This study was conducted on a model meat product in the form of meatballs made from minced: chicken breast muscles, turkey drumstick muscles, pork meat, with addition of eggs, wheat bread, salt, black pepper and herbal pepper. After heat treatment, the samples were cooled and were stored under vacuum at 4 °C for 14 days. It was shown that addition of 2 % freeze-dried tomato concentrate to meatballs resulted in cooking yield increase during heat treatment, decrease of pH and changes in colour parameters as well as stabilization of colour during storage. The addition of tomato concentrate also improved the sensory quality and also influenced the maintenance of the overall quality during the initial storage period. The addition of 4 % thyme extract to meatballs stopped oxidative changes and did not significantly affect the technological and sensory quality. Meatballs with the addition of cod liver oil and thyme extract were characterized by the highest overall quality after heat treatment. Based on sensory evaluation and oxidative status, meatballs can be stored for up to 7 days.

Key words: poultry meat, omega-3 fatty acids, thyme, tomatoes, sensory quality, oxidation

Introduction

Nowadays there is greater interest in foods that contain bioactive or functional components derived from natural sources like fruits, vegetables, herbs and spices which give additional benefits to their health status [20]. An important source of bioactive antioxidant compounds that prevent reactions of oxidation and extend the shelf-life

Prof. dr hab. W. Przybylski, dr hab. D. Jaworska, dr inż. K. Kajak-Siemaszko, dr inż. P. Sałek, inż. M. Lubański, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: wieslaw_przybylski@sggw.pl

of meat and meat products are essential oils. The addition of these natural compounds into the product can enhance the product quality [20]. Besides positive oxidation inhibition also other product attributes should be considered, for example the colour and sensory properties can be negatively affected and in consequence worsen the acceptability of the final product [19].

Omega-3 acids are a frequent addition in functional foods due to their health-promoting properties and very common deficiency in the human diet. Due to their presence mainly in fish oil, they bring upon a specific taste and aroma which is not accepted by most consumers. Therefore, it is necessary to introduce additives that inhibit these adverse changes. In turn, lycopene is considered to be the carotenoid which has the strongest antioxidative properties of all carotenoids. It is present mainly in tomatoes and their preserves [28]. In many studies tomato powder, tomato paste and tomato pomace were added with positive results to various meat products such as frankfurters [10, 25], hamburgers [12], mortadella [8]. Whereas thyme possesses various beneficial effects, e.g. antiseptic, carminative, antimicrobial and antioxidative properties [2] and its essential oil was added to minced beef meat by Zengin and Baysal [31].

Based on the mentioned properties of the selected additives, the aim of the study was to evaluate the influence of fish oil, lyophilisate of tomato concentrate or thyme extract additives on the oxidation stability, colour parameters and sensory quality during storage of poultry meat products.

Material and methods

The presented study was conducted on a model product in the form of meatballs. The raw materials for the production of meatballs included chicken breast muscles, turkey drumstick muscles, pork chops, eggs, wheat bread, salt, black pepper and herbal pepper. The characteristics of the raw material composition of tested samples before heat treatment is shown in Tab. 1.

Table 1. Characteristics of the composition of meat raw material before heat treatment
Tabela 1. Charakterystyka składu surowca mięsnego przed obróbką cieplną

Type of meat / Rodzaj mięsa	pH	L*	a*	b*
Turkey drumstick meat Mięso z podudzia indyka	6.42	45.60	8.87	12.43
Pork meat Mięso wieprzowe	5.99	72.86	1.85	10.73
Chicken breast meat Mięso z piersi kurcząt	5.99	47.10	-1.43	10.64

All products were bought in the retail trade network. Meat (68 % chicken breast, 23 % turkey drumstick and pork dewlap – 9 %) was minced on a grid with a diameter of 4 mm. The obtained mass was divided into 5 equal parts, of which one was the control sample, to the four others 1 % of cod liver oil, 4 % of thyme extract, and 2 % of freeze-dried tomato concentrate was added as shown in Tab. 2. For the purpose of the study Möller's cod liver oil (Orkla Health AS, Norway), Kamis brand thyme (McCormick Polska S.A., Polska) and freeze-dried tomato concentrate (Elena, Polska) were purchased at a supermarket in Warsaw and via the Internet.

Table 2. Characteristics of the quantity of variable additives: cod liver oil, thyme extract and freeze-dried tomato concentrate added to the meatballs

Tabela 2. Charakterystyka ilości zmiennych dodatków: tranu, ekstraktu tymianku i liofilizatu koncentratu pomidorowego wprowadzonych do pulpetów

Additives / Dodatki [%]	Samples / Próby				
	A	B	C	D	E
Cod liver oil / Tran	-	1.0	1.0	1.0	1.0
Thyme extract / Ekstrakt tymianku	-	-	4.0	-	4.0
Freeze-dried tomato concentrate Liofilizat koncentratu pomidorowego	-	-	-	2.0	2.0

Explanatory notes / objaśnienia:

A – control sample (without additives) / próba kontrolna (bez dodatków); sample with addition of / próba z dodatkiem: B – cod liver oil / tranu, C – cod liver oil and thyme extract / tranu i ekstraktu tymianku, D – cod liver oil and tomato concentrate lyophilizate / tranu i liofilizatu koncentratu pomidorowego, E – cod liver oil, thyme extract and tomato concentrate lyophilizate / tranu, ekstraktu tymianku i liofilizatu koncentratu pomidorowego.

The thyme extract was obtained by pouring 150 ml of water at 50 °C to 12 g of dried thyme. The lyophilized tomato concentrate was added in the form of the paste. The 40 g of lyophilisate was dissolved in the ratio 1: 1 with water.

From the mass meatballs with a diameter of about 5 cm were formed, heated in water with 0.8 % NaCl for about 3 min to reach a temperature of 78 °C in the geometrical center of the ball. After heat treatment, the samples were cooled to temperature 24 ± 2 °C and weighed. The samples were stored under vacuum at 4 °C for 14 days.

The cooking yield during the heat treatment process was determined by weighing the meatballs before and after heat treatment. The yield is expressed as a percentage of the mass before thermal treatment based on the formula:

$$W [\%] = (mg/ms) \times 100$$

W – cooking yield, ms – mass before thermal treatment, mg – mass after thermal treatment.

Meat colour was measured before and after heat treatment, and after 7 and 14 days of storage according to the CIE LAB ($L^*a^*b^*$) system using a CM-2300d Konica Minolta meter with a D65 light source (Konica Minolta, Inc., Japan). Each sample of meat was evaluated in 3 replications.

The pH measurement was carried out before and immediately after the heat treatment, and after 7 and 14 days of storage with the WTW SET pH-meter 303i (Weilheim, Germany) with special electrodes (SenTix® SP number 103645) enabling pH measurement directly in meat.

The level of lipid oxidation during storage were estimated with the use of the TBARS method – determination of malondialdehyde (MDA) presence as described by Shahidi [27]. Two grams of minced meat samples were mixed with 5 ml 10 % trichloroacetic acid (TCA). Next 5 ml 0,02 M 2-thiobarbituric acid (TBA) solution was added and mixed. Afterwards, samples were centrifuged at 4000 rpm for 10 min and supernatants were filtered through quantitative paper to glass tubes. The tubes were covered in plastic foil and put in a boiling water bath (98 °C) for 35 min to develop the colour. After incubation the tubes were cooled immediately in cold water and the absorbance was measured by spectrophotometer GENESYS™ 20 (Thermo Fisher Scientific, USA) at 532 nm. The results were expressed as content of malondialdehyde (MDA) in meat [mg/kg]. Each sample of meat was evaluated in duplicate. The level of lipid oxidation was measured on the day of production and after 14 days of storage.

A semi-consumer evaluation was carried out within 2 h after the production process on a group of 40 consumers. An unstructured, linear scale (100 mm) converted to numerical values (0 - 10 conventional units – c.u.) was used. The marks of anchors of the hedonic test were acceptability (not acceptable – very acceptable) with regard to the colour, aroma, consistency and palatability of each sample. The evaluation conditions and the method of samples preparation were determined in accordance to Baryłko-Pikielna and Matuszewska [3].

For susceptibility to sensory changes of meatballs during storage the Quantitative Descriptive Analysis method (QDA) [14] was applied; an unstructured, linear scale (100 mm) converted to numerical values (0 - 10 c.u.) was used. Descriptors were chosen and defined during a panel discussion and then verified in a preliminary session. Finally, 12 sensory attributes were measured to quantify the quality of the tested products; 4 odour attributes (meat, sour, fatty, other), 2 attributes of colour, 1 texture attribute and 4 attributes of flavour (meat, sour, fatty, other) and salty taste. The marks of anchors of the tested attributes for most of them were: no intensity – high intensity, for juiciness: dry – juicy, for tone of colour: dark beige – light beige, homogeneity of colour: heterogeneous – homogeneous. On the basis of the above-mentioned quality characteristics, the assessing sensory panel indicated an overall sensory quality (low – very high) for each sample on a separate scale. A trained and experienced 9-person as-

sessing panel with 5 - 15 years of sensory evaluation practice participated in the evaluation [15]. All of them had good command of sensory methodology and were familiar with the sensory quality of meat and meat products. Within 2 h after cooking the meat samples were tested at temperature 24 ± 2 °C.

The same sample preparation in both sensory tests took place. The meat samples were cut into portions of equal size, weighed (around 15 g – 1 ball cut in two equal pieces) and placed in plastic, odourless, disposable boxes covered with lids. The assessment was conducted in room with daylight. The assessment and condition mode were determined in accordance with the sensory rules. The sensory evaluation was carried out after the heat treatment of the meatballs, and after 7 and 14 days of storage.

The obtained results were analyzed using Excel and Statistica 10.0 PL. The effect of adding cod liver oil, thyme extract and freeze-dried tomato concentrate and the storage time on the physico-chemical parameters and sensory quality of poultry meatballs were estimated using a two-factor analysis of variance. The NIR test was used to determine the statistical significance of differences between means. In the case of QDA sensory data the method of Principal Component Analysis (PCA) was applied.

Results and discussion

Quality of meatballs after preparation

Meatballs with the addition of freeze-dried tomato concentrate were characterized by higher cooking yield in heat treatment. The cooking yield increased by about 4 % in comparison to the control sample (Tab. 3). This is most likely the result of the hydra-

Table 3. Cooking yield [n = 3] and sensory acceptability of the tested samples [n = 40]

Tabela 3. Wydajność [n = 3] oraz akceptowalność sensoryczna testowanych prób [n = 40]

Features / Cechy	Samples / Próby				
	A	B	C	D	E
Cooking yield Wydajność [%]	71.60	71.45	71.70	74.90	75.25
Aroma / Zapach [c.u. / j.u.]	3.97 ^a	4.01 ^{ac}	4.06 ^a	5.16 ^{bc}	5.48 ^b
Colour / Barwa [c.u. / j.u.]	3.30 ^a	3.46 ^a	3.80 ^a	5.10 ^b	5.37 ^b
Consistency Konsystencja [c.u. / j.u.]	4.25 ^a	5.03 ^{ac}	5.26 ^{ac}	5.72 ^{bc}	5.64 ^{bc}
Palatability Smakowitość [c.u. / j.u.]	4.07 ^a	4.84 ^{ab}	4.87 ^{ab}	5.66 ^b	5.69 ^b

Explanatory notes / objaśnienia:

a, b, c – mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$) / wartości średnie oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ($p < 0,05$). Other explanatory notes as in Tab. 2. / Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2.

tion of the lyophilisate during the heat treatment in the water environment. Other research of Savadkoochi et al. [25] indicated that tomato pomace-added sausages had higher water holding capacity compared to that of commercial samples.

Addition of cod liver oil (B) caused a consistency improvement probably due to the increase in the juiciness. In samples with the addition of thyme extract and tomato lyophilisate (C, D, E) there was an increase in sensory acceptability by about one unit to $5.26 \div 5.72$ on a 0 - 10 scale compared to the control sample (Tab. 3). Cáceres et al. [5] showed deterioration of mortadella samples under the influence of added fish oil. Przybysz et al. [23] confirmed, that an additive of 1 % in relation to the total weight of the product, of EPA and DHA for food does not affect acceptability and the flavour and aroma of fish oil was not perceptible. In the presented research, the poultry meatballs with the addition of cod liver oil were not assessed well by consumers.

In studies by García et al. [12], the most desirable level of addition of lycopene to beef hamburgers was an additive of 4.5 % in relation to the weight of the product. Higher levels negatively affected the overall quality of hamburgers. In the presented research, the addition of freeze-dried tomato concentrate positively influenced the characteristics of the meatball odour, colour, consistency, and acceptability. However, its combination with thyme extract improved only the odour and colour, a slight improvement was observed in the palatability. According to Skiepkó et al. [28], lycopene positively influenced the colour of meat products. Hayes et al. [13] also observed a positive effect of using lycopene in meat products in assessing colour and overall quality. In the presented research, slight deterioration in the consistency of the meatballs was observed in the case of a combination of thyme extract and tomato lyophilisate.

Quality of meatballs during storage – technological quality

A significant influence of the additives used in the technological process on the pH value and the instrument's colour parameters were found (Tab. 4). The addition of freeze-dried tomato concentrate significantly decreased the pH of the meatballs; especially in the final storage period (Fig. 1). The observed effect of tomato concentrate on lowering the pH confirmed the results of Deda et al. [7] and Eyiler and Oztan [10] in case of frankfurters. Lowering the pH most probably resulted from the presence of relatively high amounts of vitamin C and organic acids in tomato concentrate, as demonstrated in the studies by Braclawska-Zamajtys et al. [4]. In their research, the authors used the same product that was used in author's own experiment.

The addition of freeze-dried tomato concentrate also significantly influenced the colour parameters of the produced meatballs. Samples were characterized by lower brightness of colour and at the same time greater stability of colour brightness and were more red and more yellow (Tab. 4). In the study published by Hayes et al. [13]

added tomato pomace reduced the pH and increased the colour parameters a^* and b^* of both the raw and cooked luncheon roll product. Braclawska-Zamajtys et al. [4] showed that the increase of the amount of added freeze-dried tomato concentrate significantly lowered the brightness of the colour and led to an increase in the color parameter a^* and b^* . In turn Savadkoohi et al. [25] claimed that redness (a^*) of beef frankfurter samples was significantly affected by tomato pomace level (greater than 3 %), while there were no significant differences in the values of lightness (L^*) and yellowness (b^*). Yellowness increase may be due to the accumulation of Schiff pigments (lipofuscin) from lipid to protein complexes as a result of oxidative stress [6]. Eyiler and Oztan [10] state that tomato powder acted as a colouring agent in frankfurters and caused an increase at the a^* value of the samples. Meanwhile the lightness (L^*) of the samples decreased.

Table 4. The results of measurement of colour parameters of meatballs

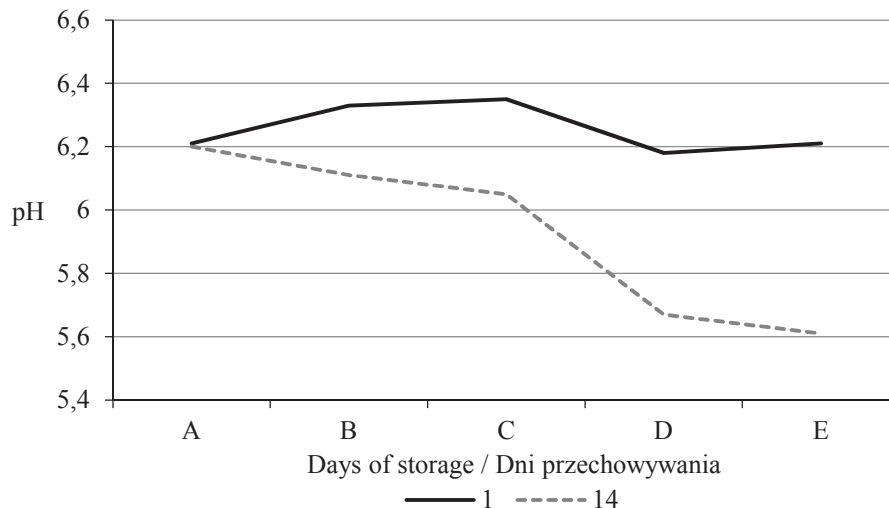
Tabela 4. Wyniki pomiaru parametrów barwy pulpetów mięsnych

Features Wyróżniki	Days of storage Dni przechowywania	Samples / Próby				
		A	B	C	D	E
L^*	1	72.56 ^a	72.58 ^a	67.71 ^b	65.05 ^c	64.95 ^c
	14	66.97 ^a	68.59 ^{ab}	69.32 ^b	62.36 ^c	63.81 ^c
a^*	1	2.06 ^a	1.95 ^a	2.29 ^a	8.45 ^b	8.69 ^b
	14	2.61 ^a	1.89 ^a	2.99 ^a	10.35 ^b	11.46 ^b
b^*	1	15.76 ^a	16.09 ^a	16.33 ^a	21.46 ^b	21.97 ^b
	14	20.39 ^a	18.90 ^{ab}	17.76 ^b	26.55 ^c	27.98 ^c

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

It seems that tomato pomace can be used in sausage formulation to improve the organoleptic and technological quality of the sausage. Many studies have shown that the coloring properties of lycopene found in tomatoes and tomato concentrates can be used in the production of sausages, hamburgers, mortadella, fermented sausages and raw cured meats [7, 8, 12, 13, 28]. These studies demonstrated that the addition of processed tomato products improved colour, nutritional properties and increased colour stability during storage, as well as limiting oxidative processes. According to Szajdek and Borowska [29], lycopene found in tomatoes has strong antioxidant properties related to the presence of 11 conjugated double bonds in the molecule.

Zengin and Baysal [31] stated that there was no significant difference among a^* values of control and samples with thyme essential oils throughout the storage period. There was also no significant difference between b^* values of treated samples. But b^* values showed a significant alteration up to 9 days in 4 °C. The colour parameters –



Explanatory note / objaśnienie:

A - E – meanings of symbols as in Tab. 2 / objaśnienia symboli jak pod tab. 2.

Fig. 1. The pH-value of meatballs after 1 and 14 days of storage

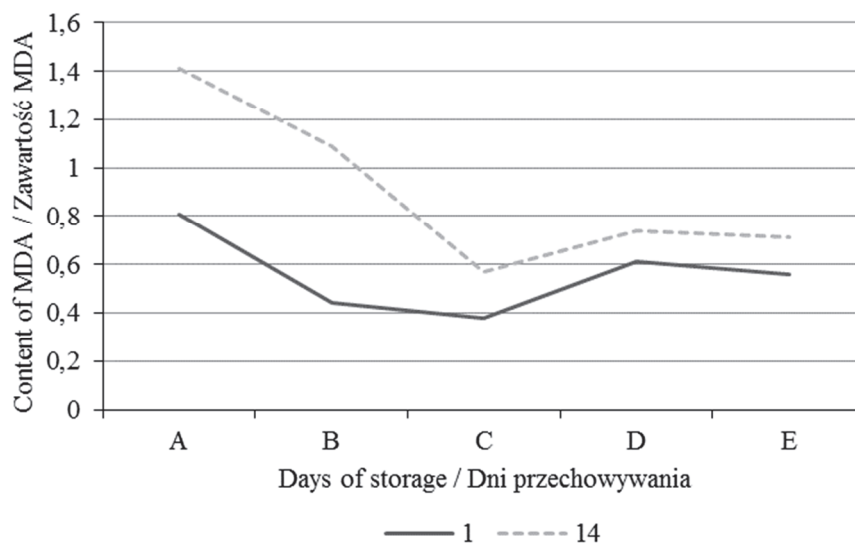
Rys. 1. Wartość pH pulpetów mięsnych po 1 i 14 dniach przechowywania

lightness, redness and yellowness were not significantly affected by the addition of thyme essential oils, when compared with control. This suggests that changes in colour parameters do not cause significant impact on sensory acceptability by consumers.

The use of bioactive additives to improve the nutritional value of meat products has already been the subject of numerous studies [4, 9, 22]. In author's own research, enrichment of poultry meatballs with polyunsaturated long-chain fatty acids derived from fish oil and the addition of thyme extract and freeze-dried tomato concentrate to limit oxidative changes and improve the sensory quality features were used. According to Piotrowska et al. [22], the most common way to increase the content of *n-3* polyunsaturated fatty acids (PUFA) in meat is the use of flaxseed, linseed oil or fish oil in feed. However, improving the nutritional value of meat and meat products enriched with PUFA may lead to deterioration of the sensory quality and durability of the obtained product. This is due to the susceptibility of PUFA to oxidation processes [9, 22]. Therefore, it is necessary to use additives that inhibit oxidation processes and improve sensory quality by limiting the taste and smell of fish and rancid. Currently, plant-based additives with antioxidant properties are used, such as herbs and spice extracts [29]. One of the additives recently used for this purpose is lycopene or tomato concentrate [4, 28].

Quality of meatballs during storage – lipid oxidation

In the case of samples with added cod liver, the durability of the product was reduced. The level of lipid oxidation transformation increased with storage time (Fig. 2). In the studies of Domiszewski et al. [9], significant changes were observed in pork meatballs with the addition of fish oil after 3 days of storage under refrigeration conditions. The level of oxidative changes was unacceptable. In studies concerning poultry frankfurter [16], fermented sausage [21] and pork sausage [30], shorter storage time of products with the addition of fish oil was also demonstrated. To minimize the negative effects of oxidative changes, antioxidant substances are usually added. In author's own research, meatballs without any antioxidant additives (A and B) were less oxidatively stable than samples with antioxidants (Fig. 2). Addition of thyme extract and freeze-dried tomato concentrate (samples C, D and E) increased the products' oxidative stability. In author's own research, the best addition based on the level of TBARS in the meatballs was thyme extract (sample C).



Explanatory note / objaśnienie:

A - E – meanings of symbols as in Tab. 2 / objaśnienia symboli jak pod tab. 2.

Fig. 2. The results of TBARS evaluation (content of malondialdehyde – MDA) in meatballs after 1 and 14 days of storage

Rys. 2. Wyniki wskaźnika TBARS (zawartość malondialdehydu – MDA) w pulpetach mięsnych po 1 i 14 dniach przechowywania

Thyme essential oil has a great potential to be used in meat products due to its powerful antioxidant properties. Its effectiveness was tested in fresh chicken breast

meat with added balm oil, extracted from the leaves of *Melissa officinalis* species, during 3 weeks of storage at 4 °C [11]. The obtained results showed that 0.5 % of thyme essential oil is enough to reduce radical formation, decrease the lipid peroxidation, avoid the deterioration of sarcoplasmic proteins and decrease deterioration reactions and extend the shelf-life of the product [11]. Besides, the use of lower doses of thyme essential oil in fresh chicken sausage (0.125 %) also confirmed the decrease of lipid oxidation without affected proteolysis and sensory properties of sausages [26]. Zengin and Baysal [31] also confirmed the antioxidant properties of the addition of thyme oil to ground beef – their study results indicated that thyme essential oils retarded lipid oxidation during 9 days of storage at 4 °C. Similar results were obtained by Karabagias et al. [17], in which thyme extract showed the best antioxidant properties among popular herbs.

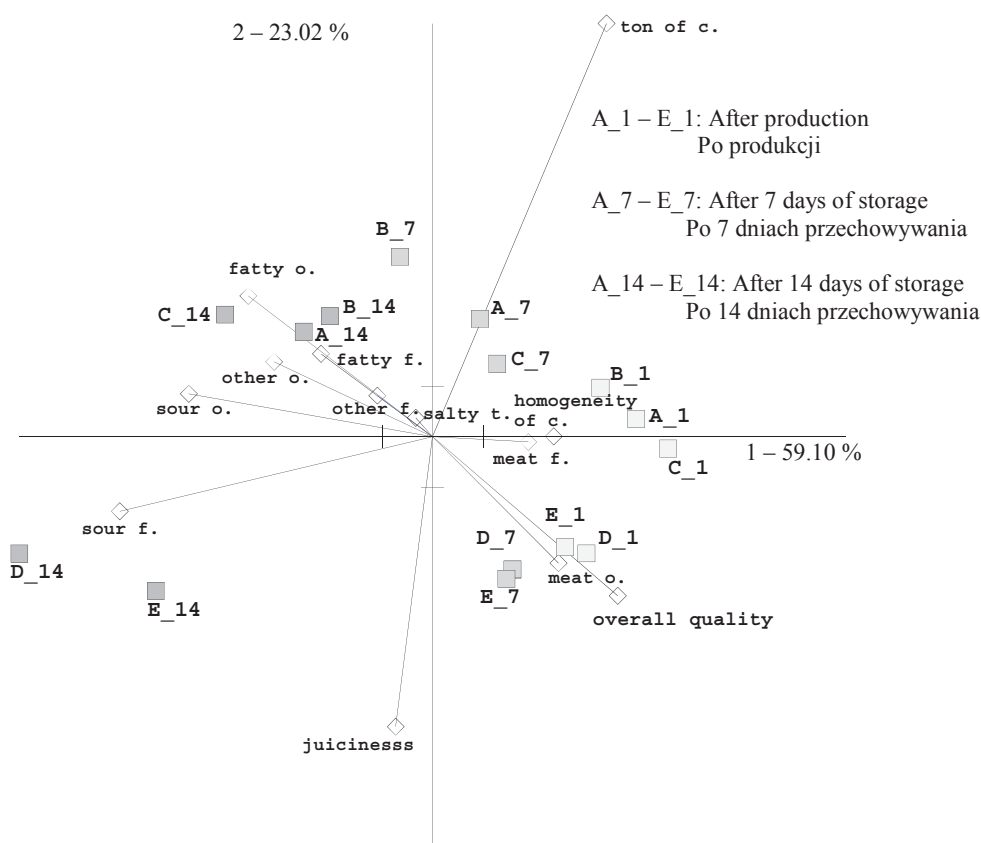
The oxidation stability was also positively influenced by the addition of freeze-dried tomato concentrate (Fig. 2). In samples C, D and E the MDA/kg value ranged from 0.57 to 0.71. In studies by Skiepkó et al. [28], Deda et al. [7], Hayes et al. [13], Doménech-Asensi et al. [8], the addition of lycopene in meat products reduced lipid oxidation. Sánchez-Escalante et al. [24] confirmed that lycopene prolongs the durability of beef patties. Tomato powder has also been reported to reduce TBARS values in pork sausages and effectively retarded lipid oxidation until the end of storage day [18]. In this study all samples did not exceed 1 mg MDA/kg sample content during the 28 days of storage. Similar results were reported by Eyiler and Oztan [10] in frankfurters with 2 and 4 % of sun-dried tomato powder during 1 month of storage under 4 °C. On the contrary Andrés et al. [1] stated that pomace extract addition did not protect meat against lipid oxidation, since no significant differences were found between treatments (control, extract obtained by using ethyl acetate and ethanol treatment).

In the sample with the addition of thyme (C), the TBARS decreased by about 3 times, while in the samples with the addition of tomato lyophilisate (D, E) about 4-fold decrease in TBARS in comparison to the control sample and the addition of cod liver oil (A, B) was observed.

Quality of meatballs during storage – sensory analysis

The scale and type of differences and similarities of the tested samples based on QDA data are shown in the PCA graphic projection (Fig. 3). The first two principal components explain 82.12 % of the total variability of the sensory quality of the samples. Attributes of meat odour and meat flavour are positively associated with overall quality. Attributes of fatty taste, fatty odour, sour odour, other odour, other flavour as well as salty flavour were directed in the opposite direction of the overall quality vector, meaning that the latter attributes have negative association with the overall quality of the investigated samples. The long vector of tone of colour, juiciness and sour fla-

your demonstrates that there is high variability in these attributes. The samples with tomato lyophilisate (D and E) directly after production process and after 7 days of storage are related to meat odour and overall quality. However, after 14 days of storage they are related to sour flavour. As for the other samples (A, B and C) directly after production process there are close to each other, along with storage time the samples move towards fatty flavour and fatty odour as well as other odour.



Explanatory notes / objaśnienia:

A - E – meanings of symbols as in Tab. 2 / objaśnienia symboli jak pod tab. 2; o. – odour / zapach, f. – flavour / smakowość, c. – colour / barwa, t. – taste / smak.

Fig. 3. The results of Principal Component Analysis (PCA) of sensory attributes of meatballs obtained by QDA method

Rys. 3. Wyniki analizy głównych składowych (PCA) wyróżników sensorycznych pulpetów mięsnych, otrzymanych metodą QDA

Deda et al. [7] in their studies claimed that using tomato purée as an additive to meat products is only suitable for fresh products and products stored less than 14 days.

During longer storage changes were not accepted by consumers. In author's own studies 14-day storage significantly lowered the sensory assessment of the meatballs. This was most likely caused by acidification of the samples. In the case of shorter storage antioxidant additives positively influenced the overall quality and juiciness of products.

The reduced colour tone for samples D and E was caused by the addition of lyophilized tomato, which changed the colour tone from light-beige to dark-beige. According to Skiepkó et al. [28], lycopene is a commonly used dye in meat products due to its color-improving properties.

Conclusions

1. It was shown that the additives (cod liver oil, thyme extract and freeze-dried tomato concentrate) significantly affected the physicochemical characteristics and sensory quality of poultry meatballs.
2. Addition of freeze-dried tomato concentrate to meatballs resulted in increased cooking yield in heat treatment, decreased pH and changes in colour parameters (reduced brightness, increased intensity of a* and b* parameter) and their stabilization during storage. It also improved the sensory quality and influenced the maintenance of the products' overall quality during the initial storage period.
3. Addition of thyme extract to the meatballs significantly reduced oxidative changes and at the same time did not significantly affect the colour parameters, pH and sensory quality. Meatballs with the addition of cod liver oil and thyme extract were characterized by the highest overall quality after heat treatment.
4. Based on their sensory quality and oxidative status it was shown that only 7 days of storage of meatballs was practicable.

References

- [1] Andrés A.I., Petró M.J., Delgado-Adámez J., López M., Timón M.L.: Effect of tomato pomace extracts on the shelf-life of modified atmosphere-packaged lamb meat. *J. Food Process. Preserv.*, 2017, 41 (4), #e13018.
- [2] Baranauskienė R., Venskutonis P.R., Viskelis P., Dambrauskienė E.: Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 7751-7758.
- [3] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [4] Braclawska-Zamajtys A., Salek P., Jaworska D., Hallman E., Przybylski W.: Charakterystyka jakości produktów mięsnych z dodatkiem liofilizowanych ekstraktów pomidorowych. XLVII Dni Przemysłu Mięsnego oraz Sympozjum Naukowo-Techniczne pt. „Postęp w technologii mięsa. Nauka w Praktyce”, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa, 2017.

- [5] Cáceres E., Garcia M.L., Selgas M.D.: Effect of pre-emulsified fish oil – as source of PUFA *n-3* – on microstructure and sensory properties of mortadella, a Spanish bologna-type sausage. *Meat Sci.*, 2008, 80, 183-193.
- [6] Chelh I., Gatellier P., Santé-Lhoutellier V.: Characterization of fluorescent Schiff bases formed during oxidation of pig myofibrils. *Meat Sci.*, 2007, 76, 210-215.
- [7] Deda M.S., Bloukas J.G., Fista G.A.: Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Sci.*, 2007, 76, 501-508.
- [8] Doménech-Asensi G., García-Alonso F.J., Martínez E., Santaella M., Martín-Pozuelo G., Bravo S., Periago M.J.: Effect of the addition of tomato paste on the nutritional and sensory properties of mortadella. *Meat Sci.*, 2013, 93, 213-219.
- [9] Domiszewski Z., Łaszczak A., Kosińska M., Grudka A.: Wpływ dodatku oleju rybiego, sposobu gotowania i czasu przechowywania na jakość lipidów w pulpetach z mięsa wieprzowego. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis seria Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 2013, 307(28), 23-24.
- [10] Eyiler E., Oztan A.: Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2011, 44, 307-311.
- [11] Fratianni F., de Martino L., Melone A., de Feo V., Coppola R., Nazzaro F.: Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *J. Food Sci.*, 2010, 75(8), M528-M535.
- [12] García M.L., Calvo M.M., Selgas M.D.: Beef hamburgers enriched in lycopene using dry tomato peel as an ingredient. *Meat Sci.*, 2009, 83, 45-49.
- [13] Hayes J.E., Canonico I., Allen P.: Effects of organic tomato pulp powder and nitrite level on the physicochemical, textural and sensory properties of pork luncheon roll. *Meat Sci.*, 2013, 95, 755-762.
- [14] ISO 13299:2016. Sensory analysis. Methodology. General guidance for establishing a sensory profile.
- [15] ISO 8586:2012. Sensory analysis. General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors.
- [16] Jeun-Horng L., Youan-Hui L., Chun-Chin K.: Effect of dietary fish oil fatty acid composition lipid oxidation and sensory property of chicken frankfurters during storage. *Meat Sci.*, 2002, 60, 161-167.
- [17] Karabagias I., Badeka A., Kontominas M.G.: Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Sci.*, 2011, 88, 109-116.
- [18] Kim H.S., Chin K.B.: Antioxidant activity of tomato powders as affected by water solubility and application to the pork sausages. *Korean J. Food Sci. An.*, 2013, 33, 170-180.
- [19] Kumar Y., Yadav D.N., Ahmad T., Narsaiah K.: Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2015, 14, 796-812.
- [20] Pateiro M., Barba F.J., Domínguez R., Sant'Ana A.S., Khaneghah A.M., Gavahian M., Gómez B., Lorenzo J.M.: Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Res. Int.*, 2018, 113, 156-166.
- [21] Pelsler W.M., Linssen J.P.H., Legger A., Houben J.H.: Lipid oxidation in *n-3* fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci.*, 2007, 75, 1-11.
- [22] Piotrowska A., Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Możliwość uzyskania mięsa i przetworów z mięsa wieprzowego o podwyższonej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych *n-3*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 5(84), 5-19.
- [23] Przybysz M.A., Szterk A., Zawisłak M., Dłużewska E.: Wpływ procesu mikrokapsułkowania i dodatku przeciwutleniaczy na stabilność oleju rybnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 2(93), 123-138.
- [24] Sánchez-Escalante A., Torrecano G., Djenane D., Beltrán J.A., Roncalés P.: Stabilisation of colour and odour of beef patties by using lycopene-rich tomato and peppers as a source of antioxidants. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, 83, 187-194.

- [25] Savadkoobi S., Hoogenkamp H., Shamsi K., Farahnaky A.: Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meat-free sausage containing tomato pomace. *Meat Sci.*, 2014, 97, 410-418.
- [26] Sharma H., Mendiratta S.K., Agrawal R.K., Gurunathan K., Kumar S., Singh T.P.: Use of various essential oils as bio preservatives and their effect on the quality of vacuum packaged fresh chicken sausages under frozen conditions. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2017, 81, 118-127.
- [27] Shahidi F.: The 2-tiobarbituric acid (TBA) methodology for the evaluation of warmed-over flavour and rancidity in meat products. 36th ICoMST, Cuba, 1990, pp. 1008-1014.
- [28] Skiepmo N., Chwastowska-Siwicka I., Kondratowicz J.: Właściwości likopenu i jego wykorzystanie do produkcji żywności funkcjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, 6(103), 20-32.
- [29] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4(41) Supl., 5-28.
- [30] Valencia I., O'Grady M.N., Ansorena D., Astiasarán I., Kerry J.P.: Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Sci.*, 2008, 80, 1046-1054.
- [31] Zengin H., Baysal A.H.: Antioxidant and antimicrobial activities of thyme and clove essential oils and application in minced beef. *J. Food Process. Preserv.*, 2015, 39, 1261-1271.

OCENA PRODUKTÓW MIĘSNYCH Z DODATKIEM WYBRANYCH SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH

Streszczenie

Dodatek bioaktywnych związków przeciwutleniających do produktów może podwyższyć ich jakość i wydłużyć okres przechowywania mięsa i produktów mięsnych. Celem pracy była ocena wpływu dodatku tranu, liofilizatu koncentratu pomidorowego i ekstraktu tymianku na stabilność oksydacyjną, parametry barwy i jakość sensoryczną produktu mięsnego podczas jego przechowywania. Badanie przeprowadzono na modelowym produkcie mięsnym w postaci pulpetów wykonanych z rozdrobnionego surowca pochodzącego z mięśni piersi kurcząt, mięśni podudzia z indyka, mięsa wieprzowego, z dodatkiem jaj, bułki tartej, soli, czarnego pieprzu, pieprzu zielonego. Po obróbce cieplnej próbki chłodzono i przechowywano pod próżnią w temp. 4 °C przez 14 dni. Wykazano, że 2-procentowy dodatek liofilizowanego koncentratu pomidorowego do pulpetów mięsnych spowodował zwiększenie wydajności gotowania podczas obróbki cieplnej, obniżenie pH oraz zmiany parametrów barwy i stabilizację barwy podczas przechowywania. Dodatek koncentratu pomidorowego poprawił również jakość sensoryczną, a także wpłynął na utrzymanie ogólnej jakości podczas początkowego okresu przechowywania. Dodatek 4 % ekstraktu z tymianku do pulpetów mięsnych spowodował zatrzymanie zmian oksydacyjnych i nie wpłynął znacząco na jakość technologiczną i sensoryczną. Pulpety z dodatkiem tranu i ekstraktu z tymianku charakteryzowały się najwyższą ogólną jakością po obróbce cieplnej. Na podstawie oceny sensorycznej i statusu oksydacyjnego możliwe jest przechowywanie pulpetów do 7 dni.

Słowa kluczowe: mięso drobiowe, kwasy omega-3, tymianek, pomidory, jakość sensoryczna, utlenianie



Numery ORCID:

Wiesław Przybylski – 0000-0003-4949-370X

Danuta Jaworska – 0000-0002-1242-5255

Katarzyna Kajak-Siemaszko – 0000-0003-0187-8125

Piotr Sałek – 0000-0001-8012-3593

ANNA FLIS-KACZYKOWSKA, PRZEMYSŁAW DMOWSKI

OCENA WYBRANYCH WYRÓŹNIKÓW JAKOŚCI OWOCÓW CYTRUSOWYCH

Streszczenie

Owoce cytrusowe stanowią bogate źródło substancji przeciwutleniających. Zawarte w nich przeciwutleniacze, zwłaszcza apigenina i naringenina, są niezwykle istotne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Wspierają m.in. profilaktykę chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych. Regularne spożywanie owoców cytrusowych może mieć korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Ze względu na parametry fizykochemiczne, cenne właściwości żywieniowe oraz walory sensoryczne owoce cytrusowe są dość często spożywane przez polskich konsumentów. Na polskim rynku wciąż pojawiają się dotychczas nieznanym polskim konsumentom owoce cytrusowe. Ich przykładem są owoce kumkwatu charakteryzujące się dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi.

Celem pracy było porównanie właściwości przeciwutleniających owoców pomelo i kumkwatu z owocami pomarańczy i klementynek. W pracy oznaczono całkowitą zawartość związków polifenolowych [mg GAE/100 g] oraz aktywność przeciwutleniającą [%]. Dodatkowo oznaczono zawartość ekstraktu ogólnego [%] i zawartość cukrów redukujących [%]. Na podstawie analizy uzyskanych wyników stwierdzono, że owoce kumkwatu w porównaniu z pozostałymi badanymi owocami zawierały najwięcej związków polifenolowych ogółem (52,82 mg GAE/100 g) oraz charakteryzowały się najwyższą aktywnością przeciwutleniającą (60,03 %), a jednocześnie – małą zawartością cukrów bezpośrednio redukujących (10,93 %), co czyniło je najbardziej wartościowymi pod względem żywieniowym.

Słowa kluczowe: owoce cytrusowe, kumkwat, związki polifenolowe, aktywność przeciwutleniająca, cukry redukujące, ekstrakt ogólny

Wprowadzenie

Według danych Głównego Urzędu Statystycznego [4] w 2017 roku spożycie świeżych owoców w Polsce wynosiło 54,0 kg/osobę i było wyższe o 18,52 % aniżeli w latach 2010 - 2013. Aż 20,5 % (12 kg/osobę) ogólnego spożycia owoców stanowiły owoce cytrusowe. Obserwuje się stały wzrost spożycia świeżych owoców, w tym

Mgr inż. A. Flis-Kaczykowska, dr hab. inż. P. Dmowski, Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia. Kontakt: a.flis-kaczykowska@wpit.umg.edu.pl

głównie cytrusów i bananów, przy jednoczesnym zmniejszeniu spożycia rodzimych owoców, tj. jabłek i śliwek. Przyczynił się do tego wzrost handlu międzynarodowego oraz ogólna globalizacja rynków, co niewątpliwie wzbogaciło różnorodność dostępnych dla polskich konsumentów gatunków owoców [10].

Do najczęściej spożywanego owoców cytrusowych w Polsce zalicza się m.in. pomarańcze i klementynki. W 2017 roku Polska importowała 165531,3 ton pomarańczy, głównie z Hiszpanii (47 %), co stanowiło 32,96 % wszystkich importowanych do Polski owoców cytrusowych (502217,2 ton) [6]. W roku 2012 pomarańcze stanowiły ok. 70 % produkcji owoców cytrusowych na świecie, a w 2013 odnotowano zbiór tych owoców na poziomie 71,4 mln ton (ok. 72 % światowej produkcji owoców cytrusowych) [21].

Wyróżnia się sześć gatunków pomarańczy, które w przeszłości stanowiły podstawę do mutacji genetycznych, w wyniku których powstały klementynki, pomelo i kumkwaty. Wszystkie gatunki pomarańczy uprawia się w klimacie tropikalnym i subtropikalnym, gdyż wymagają one dużego nasłonecznienia oraz znacznej ilości wody do prawidłowego wzrostu. Największa produkcja pomarańczy na świecie ma miejsce w Hiszpanii (24 %), Afryce Południowej (16 %), Stanach Zjednoczonych (14 %) oraz w Egipcie (12 %) [20]. Do zbioru pomarańcze muszą być w pełni dojrzałe, gdyż nie dojrzewają podczas transportu. Miąższ dojrzałych owoców drzewa pomarańczowego stanowi źródło witamin, w tym głównie witaminy C. Charakteryzuje się słodko-kwaśnym smakiem i intensywnym zapachem. Pomarańcze najczęściej spożywa się w formie świeżej lub przetworzone w postaci soku [7].

Klementynki stanowią jedną z odmian mandarynek. Import tych owoców do Polski w 2017 r. wyniósł 54349,8 ton, co stanowiło 10,82 % ogólnego importu owoców cytrusowych [5]. Klementynka powstała poprzez nieumyślne skrzyżowanie mandarynki z gorzką pomarańczą. Największe uprawy klementynki zlokalizowane są we Włoszech, Hiszpanii, Turcji, Izraelu i w Libanie. Owoce charakteryzują się kulistym, nieco spłaszczonym kształtem, dzięki czemu można w łatwy sposób odróżnić ją od mandarynek. Odznaczają się skórką o barwie ciemnopomarańczowej do czerwonej, która bardzo łatwo odchodzi od owocu. Klementynki nie dojrzewają podczas przechowywania, dlatego należy je składować w temperaturze pokojowej [8].

Pomelo, które należy do grupy mniej popularnych owoców cytrusowych, pochodzi z Azji Południowo-Wschodniej, Malezji i Indonezji, rośnie też dziko na wyspie Fidzi. Dzisiaj pomelo jest uprawiane przede wszystkim w Indiach, Chinach, Tajlandii i w Izraelu. Pomelo jest znane głównie jako przodek grejpfruta, który stanowi krzyżówkę pomelo z chińską pomarańczą. Z tego powodu w handlu międzynarodowym pomelo oraz grejpfruta stanowią jedną grupę towarową. Import tych owoców do Polski w 2017 r. wyniósł 49922,2 ton, co stanowiło 9,94 % ogólnego importu owoców cytrusowych [6].

Owoce pomelo charakteryzują się największym rozmiarem w grupie owoców cytrusowych. Ich masa może dochodzić nawet do 2 kg, a średnica do 20 cm. W zależności od gatunku mają żółtą, żółtozieloną lub różową grubą skórkę (nawet do 5 cm grubości), naturalnie pokrytą woskiem. Miąższ owocu jest różowy bądź żółtawy, podzielony na segmenty, z licznymi nasionami wewnątrz. Wydaje się, że owoce pomelo są podobne w smaku do grejpfruta, jednak cechują się one brakiem goryczki i mniejszą soczystością [8]. Roślina pomelo charakteryzuje się zróżnicowaną aktywnością biologiczną. W Azji Południowo-Wschodniej wywaru z liści i kwiatów pomelo używa się jako środka uspokajającego przy epilepsji, płasawicy i silnych atakach kaszlu, natomiast gorący wywar z liści używany jest jako lek na opuchlizny i zranienia. Dzięki dużej zawartości olejków eterycznych kwiaty pomelo wykorzystywane są do produkcji perfum [12].

Szczególnymi owocami wśród cytrusów są kumkwaty, które stosunkowo niedawno pojawiły się na polskim rynku. Są one określane klejnotem w rodzinie cytrusowej, często zwane złotymi pomarańczami. Nazwę tę można powiązać ze złotopomarańczową barwą dojrzałych owoców. Słowo kumkwat wywodzi się z dwóch kantońskich wyrazów: *kam* i *kquat*, gdzie *kam* oznacza złoto, a *kquat* pomarańczę. Kumkwaty w dużej mierze pochodzą z górskich lasów południowych Chin, jednak od kilku wieków uprawiane są również w innych krajach azjatyckich, jak Japonia, Korea czy Tajwan. Do Europy dotarły w pierwszej połowie XIX wieku i do dziś są uprawiane w krajach śródziemnomorskich. Na polskim rynku jest to produkt wciąż trudno dostępny. Według danych Ministerstwa Przedsiębiorczości i Technologii import kumkwatów oraz bergamotki, małych zielonych cytryn i cedratów do Polski w 2017 r. wyniósł 475,9 ton, co stanowiło jedynie 0,095 % ogólnego importu owoców cytrusowych [6]. Import wymienionych gatunków jest niewielki w porównaniu z pozostałymi owocami cytrusowymi.

Owoce kumkwatu, jako jedyne z poddanych ocenie, nie należą do rodzaju *Citrus*, a do odrębnego rodzaju kumkwat (łac. *Fortunella Swingle*). Omawiane owoce znacznie odbiegają wielkością od pozostałych owoców cytrusowych. W zależności od odmiany wyróżnia się okrągłe, owalne lub podłużne owoce o długości nieprzekraczającej 4 cm. Skórka jest miękka, cienka, słodka w smaku i całkowicie jadalna, więc dojrzałe owoce spożywa się w całości, gdyż smaczna skórka niweluje lekko kwaśny oraz gorzkawy smak miąższu. Bezpośrednio przed spożyciem dojrzałe owoce parzy się gorącą wodą w celu nadania gotowości konsumpcyjnej. Kumkwaty spożywane są również w formie przetworzonej – jako likiery, dżemy, konfitury, owoce kandyzowane oraz w formie cukierków. Świeże owoce kumkwatu charakteryzują się dużą zawartością witamin A, C, E. Ich skórka bogata jest w błonnik pokarmowy oraz pektyny, a owoce są cennym źródłem flawonoidów, w tym głównie naringeniny i apigeiny oraz karotenoidów [17]. Ze względu na prozdrowotne właściwości i oryginalne walory sensorycz-

ne owoce kumkwatu stanowią produkt godny zainteresowania konsumentów. Jak podkreślają Babicz-Zielińska i Zabrocki [1], cechy sensoryczne oraz prozdrowotne produktu są brane pod uwagę przy zakupie i spożywaniu nowych produktów, zwłaszcza przez młodych konsumentów.

Celem pracy było porównanie właściwości przeciwutleniających owoców pomelo i kumkwatu z owocami pomarańczy i klementynek.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na dojrzałych, świeżych, czystych i nieuszkodzonych owocach. Do analiz użyto zakupionych na lokalnym rynku hiszpańskich klementynek (łac. *Citrus clementina*), hiszpańskich pomarańczy (łac. *Citrus sinensis*), portugalskiego pomelo (łac. *Citrus maxima*) oraz hiszpańskich kumkwatów (łac. *Fortunella margarita*). W pierwszym etapie badań dokonywano oceny sensorycznej oraz oceny jakości handlowej owoców według metodyki opisanej przez Kolendę [3], co pozwoliło na zakwalifikowanie badanej próby do dalszej części badań. Bezpośrednio przed przygotowaniem próbek do badań owoce każdorazowo myto, obierano z niejadalnej skórki, drylowano niejadalne pestki i jadalną część rozdrabniano na jednorodną masę. Jedynie owoce kumkwatu parzono wrzącą wodą, następnie drylowano z pestek i rozdrabniano na jednorodną masę za pomocą blendera ręcznego zgodnie z zaleceniami, które podali Shyi-Neng i Chi-Tang [16]. W czasie wykonywania analiz owoce w całości przechowywano w warunkach chłodniczych, w temp. 3 - 6 °C, przez okres nie dłuższy niż siedem dni. Wszystkie oznaczenia wykonywano minimum w trzech równoległych powtórzeniach, po trzy próbki z każdego badanego produktu.

Oznaczano zawartość ekstraktu ogólnego [%] i cukrów redukujących [%] oraz całkowitą zawartość związków polifenolowych [mg GAE/100 g] i aktywność przeciwutleniającą [%].

Oznaczanie ekstraktu ogólnego wykonywano metodą refraktometryczną zgodnie z PN-EN 12143:2000 [11]. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących wykonywano metodą Lane-Eynona według metody opisanej przez Stawarską i wsp. [19].

Określenie zawartości związków polifenolowych ogółem w ekstrakcie badanych owoców wykonywano metodą Folina-Ciocalteu'a na podstawie metody opracowanej przez Singletona i Rossiego [18], Nawirską, Sokół-Łętowską i Kucharską [9] oraz Rekhę i wsp. [14]. Polifenole zawarte w badanych ekstraktach (jako rozpuszczalnik zastosowano wodę) oznaczano kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu'a. W celu oznaczenia zawartości polifenoli ogółem do każdej badanej próbki dodawano po 5 ml rozcieńczonego odczynnika Folina-Ciocalteu'a o stężeniu 10 %, następnie po upływie 5 min dodawano po 4 ml 7,5-procentowego roztworu węgla wapnia, po czym zawartość każdej próbki mieszano, wykorzystując Vortex i inku-

bowano przez 30 min w temp. ok. 25 °C. Absorbancję badanych próbek o niebieskim zabarwieniu odczytywano przy długości fali $\lambda = 750$ nm wobec standardów, które stanowiły wzorcowe roztwory kwasu galusowego o stężeniach [%]: 10, 20, 30, 40 i 50. Wyniki wyrażano w mg GAE/100 g owoców.

Właściwości przeciwutleniające przygotowanych ekstraktów (jako rozpuszczalnik zastosowano wodę) oznaczano poprzez pomiar ich zdolności do unieczynniania syntetycznych, stabilnych rodników DPPH^{*} według metody, którą opracowali Sanchez-Moreno [15] i Rekha i wsp. [14]. Zastosowana metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do roztworu DPPH^{*}, który w formie rodnikowej wykazuje maksymalną absorbancję przy długości fali $\lambda = 517$ nm. Wartość absorbancji rodnika maleje po dodaniu związku przeciwrodnikowego. Z różnicy absorbancji roztworu rodników DPPH^{*} przed dodaniem potencjalnych przeciwutleniaczy oraz po nim oznacza się ich aktywność przeciwutleniającą [2]. Redukcję rodnika DPPH^{*} wyrażoną w procentach obliczano z równania:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH}^* [\%] = (A_0 - A_t) / A_0 \cdot 100$$

gdzie: A_0 – absorbancja alkoholowego roztworu rodnika DPPH^{*} (próby kontrolnej), A_t – absorbancja alkoholowego roztworu DPPH^{*} z badaną próbką.

Otrzymane wyniki przedstawiono jako wartość średnią z trzech powtórzeń. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu Statistica 13.1. W celu określenia różnic pomiędzy badanymi grupami owoców zastosowano analizę wariancji (ANOVA). Do sprawdzenia istotności różnic pomiędzy poszczególnymi grupami przeprowadzono testy post-hoc ($p \leq 0,05$). Obliczono korelację pomiędzy poszczególnymi parametrami.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tab. 1.

Ekstrakt ogólny rozumiano jako zawartość substancji rozpuszczalnych w wodzie, nieulatniających się z parą wodną – głównie sacharydów, kwasów organicznych, substancji mineralnych, bez substancji zapachowych, kwasów lotnych, alkoholu i tlenu siarki(IV). Zawartość ekstraktu w znacznym stopniu determinuje jakość żywieniową oraz cechy sensoryczne produktu [5]. Największą zawartością ekstraktu ogólnego charakteryzowały się pomarańcze (15,17 %) oraz pomelo (15,83 %) i stanowiły odrębną grupę pod względem wartości tego parametru. Następną grupę stanowiły owoce kumkwatu (11,32 %) i klementynki (10,87 %). Uzyskane wyniki świadczą o tym, że owoce pomarańczy i pomelo charakteryzowały się największą zawartością substancji nielotnych, takich jak: cukry, makroelementy, substancje przeciwutleniające i barwniki, co stanowi o dużej wartości odżywczej i biologicznej tych owoców w porównaniu z pozostałymi badanymi owocami cytrusowymi.

Tabela 1. Wybrane parametry jakości owoców cytrusowych

Table 1. Selected quality parameters of citrus fruits

Parametr jakości Quality parameter	Pomarańcza Orange	Klementynka Clementine	Pomelo	Kumkwat Kumquat
Zawartość ekstraktu ogólnego Total extract content [%]	15,17 ^a ± 0,06	10,87 ^b ± 0,12	15,83 ^a ± 0,15	11,32 ^b ± 0,08
Zawartość cukrów redukujących Reducing sugars content [%]	15,07 ^b ± 0,81	10,65 ^a ± 0,37	15,39 ^b ± 0,38	10,93 ^a ± 0,31
Zawartość polifenoli ogółem Total polyphenol content [mg GAE/100 g]	27,69 ^b ± 0,82	34,75 ^a ± 0,81	43,24 ^c ± 0,46	52,82 ^d ± 0,79
Zdolność wygaszania rodnika DPPH* / Ability to quench the DPPH* radical [%]	53,37 ^b ± 0,54	42,97 ^a ± 0,87	53,38 ^b ± 0,40	60,02 ^c ± 0,80

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; a - d – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

W badanych owocach występują cukry proste w postaci ketoz i aldoz (m.in. fruktozy, glukozy, mannozy, galaktozy, rybozy) ulegających reakcji redukcji, dlatego oznaczono zawartość cukrów bezpośrednio redukujących (tab. 1).

Największą zawartość cukrów redukujących stwierdzono w pomelo (15,39 %) i pomarańczach (15,07 %). W znacznym stopniu wyniki te różniły się od wartości oznaczonych w kumkwatach (10,93 %) i klementynkach (10,65 %).

W celu zweryfikowania właściwości przeciwutleniających badanych owoców oznaczono zawartość związków polifenolowych ogółem (tab. 1).

Stwierdzono, że zawartość związków polifenolowych ogółem w badanych owocach wahała się od 27,69 mg GAE/100 g – w pomarańczach do 52,82 mg GAE/100 g – w owocach kumkwatu. Największą zawartością polifenoli ogółem charakteryzowały się owoce kumkwatu (52,82 mg GAE/100 g). Mogło to wynikać z faktu, że w skład próbki owoców kumkwatu wchodził cały owoc, włącznie ze skórką, która jest bogatym źródłem składników bioaktywnych. Analizie poddano zaś cały owoc, gdyż zaleca się, aby owoce kumkwatu spożywać w takiej formie. Owoce pomelo (43,24 mg GAE/100 g) i klementynki (34,75 mg GAE/100 g) charakteryzowały się mniejszą zawartością związków polifenolowych ogółem niż owoce kumkwatu. Najmniejszą zawartością badanych związków cechowały się pomarańcze (27,69 mg GAE/100 g), które należą do najczęściej spożywanych owoców południowych w Polsce. Stwierdzono statystycznie istotne różnice między uzyskanymi wynikami, dlatego badanych owoców cytrusowych nie łączono w grupy według tego parametru.

Wyniki zawartości związków polifenolowych ogółem w owocach cytrusowych uzyskane w badaniach własnych były niższe od tych, które wykazali Ramful i wsp. [13] oraz Shyi-Neng i wsp. [17], mimo zastosowania analogicznej metody badawczej. Nadmienić należy, że materiałem doświadczalnym wymienionych autorów były owoce świeże, niepoddane procesom transportowym. Na wynik uzyskany w badaniach własnych mogły mieć wpływ takie czynniki, jak: kraj pochodzenia owoców, czas zbioru, warunki przechowalnicze i transportowe oraz czas, jaki upłynął od zbioru do przeprowadzenia analizy. Ramful i wsp. [13] dowiedli, że zawartość polifenoli ogółem w kumkwatach nie przekraczała 57,3 mg GAE/100 g, w pomelo nie przekraczała 45,1 mg GAE/100 g, w owocach pomarańczy nie była większa niż 32,72 mg GAE/100 g, natomiast w klementynkach nie przekraczała 35,6 mg GAE/100 g. Warto jednak zauważyć, że zawartość polifenoli ogółem w owocach kumkwatu była duża w porównaniu z innymi badanymi owocami cytrusowymi. Stwierdzono, że zawartość polifenoli ogółem w owocach kumkwatu (52,82 mg GAE/100g) w porównaniu z ich zawartością w pomarańczach (27,69 mg GAE/100 g) była prawie dwukrotnie większa.

Aktywność przeciwutleniająca badanych owoców wynosiła $40 \div 60$ %. Największą zdolnością wygaszania rodnika DPPH^{*} charakteryzowały się owoce kumkwatu (60,02 %), co korespondowało z zawartością polifenoli [mg GAE/100 g] (tab. 1). Nieznacznie niższe wartości oznaczono w owocach pomelo (53,38 %) i pomarańczach (53,37 %). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem aktywności przeciwutleniającej pomelo i pomarańczy. Najniższą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się klementynki (42,97 %). Uzyskane w pracy wyniki nieznacznie odbiegają od wyników publikowanych przez innych autorów. Ramful i wsp. [13] podają, że aktywność przeciwutleniająca badanych owoców mieści się między 39,7 % (klementynka) a 67,9 % (kumkwat), co potwierdza, że kumkwat jest owocem o najwyższej aktywności biologicznej spośród badanej grupy.

W celu weryfikacji zależności pomiędzy oznaczanymi parametrami wyznaczono współczynniki korelacji Pearsona. Stwierdzono statystycznie istotną korelację pomiędzy zawartością związków polifenolowych ogółem a aktywnością przeciwutleniającą ($r = 0,604$; $p = 0,039$). Na podstawie wielkości tego wskaźnika stwierdzono wprost proporcjonalną, umiarkowaną korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a zawartością polifenoli ogółem w badanych owocach cytrusowych, co rozumie się jako równoległy wzrost lub zmniejszenie danych cech. Dodatkowo istotne zależności wykazano między zawartością ekstraktu ogólnego a zawartością cukrów redukujących ($r = 0,998$, $p = 0,00$).

Wnioski

1. Owoce kumkwatu charakteryzowały się największą zawartością polifenoli ogółem (52,82 mg GAE/100 g) oraz najwyższą aktywnością przeciwutleniającą (60,03 %)

- w porównaniu z pozostałymi badanymi owocami cytrusowymi. Dodatkowo zawierały mało cukrów redukujących (10,93 %), co czyni je wartościowymi pod względem żywieniowym. Owoce kumkwatu stanowią oddzielną grupę owoców cytrusowych o charakterystycznych tylko dla tego gatunku właściwościach.
2. Pomarańcze (15,17 % ekstraktu ogólnego, 15,07 % cukrów redukujących) i pomelo (15,83 % ekstraktu ogólnego, 15,39 % cukrów redukujących) charakteryzowały się największą zawartością ekstraktu ogólnego i cukrów redukujących spośród badanych owoców.
 3. W badanych owocach stwierdzono umiarkowaną zależność między aktywnością przeciwutleniającą a zawartością polifenoli ogółem ($r = 0,604$).

Źródło finansowania: Uniwersytet Morski w Gdyni, Indywidualny Projekt Badawczy Anny Flis-Kaczykowskiej WPiT/2019/PI/05 oraz Zbiorowy Projekt Badawczy Katedry Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością WPiT/2019/PZ/04.

Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E., Zabrocki R.: Postawy konsumentów wobec prozdrowotnej wartości żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 6 (55), 81-89.
- [2] Drużyńska B., Szymańska J., Ciecierska M., Derewiaka D., Kowalska J., Majewska E.: Składniki bioaktywne i właściwości przeciwnadciśnieniowe wybranych owoców egzotycznych. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2014, 2, 169-174.
- [3] Kolenda H.: *Towaroznawstwo artykułów spożywczych*. Cz. 2. Wyd. Akademii Morskiej w Gdyni, Gdynia 2005, s. 89.
- [4] GUS: *Rocznik Statystyczny Rolnictwa*. Zakład Wyd. Stat., Warszawa 2017, s. 366.
- [5] Michalak-Majewska M.: Ocena składu i właściwości soków owocowych preferowanych przez konsumentów. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, XLII (3), 836-841.
- [6] Ministerstwo Przedsiębiorczości i Technologii, Departament Handlu i Współpracy Międzynarodowej: *Obroty towarowe, import 2017 r.*
- [7] Morton J.F.: *Fruits of warm climates*. Echo Point Books and Media, Miami 1987, pp. 134-142.
- [8] Morton J.F.: *Fruits of warm climates*. Echo Point Books and Media, Miami 1987, pp. 147-151.
- [9] Nawirska A., Sokół-Lętowska A., Kucharska A.Z.: Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 4 (53), 120-125.
- [10] Olewnicki D., Sobczak W., Gunerka L.: Zainteresowanie warszawskich konsumentów owocami mało znanymi i egzotycznymi. *Zesz. Nauk. SGGW, Ekonomika i Organizacja Gospodarki Żywnościowej*, 2016, 114, 131-142.
- [11] PN-EN 12143:2000. *Soki owocowe i warzywne. Oznaczenie zawartości substancji rozpuszczalnych metodą refraktometryczną*.
- [12] Podbielkowski Z.: *Słownik roślin użytkowych*. PWRiL, Warszawa 1989.
- [13] Ramful D., Tarnus E., Aruoma O.I., Bourdon E., Bahorun T.: Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Res. Int.*, 2011, 44, 2088-2099.
- [14] Rekha C., Poornima G., Manasa M., Abhipsa V., Pavithra Devi J., Vijay Kumar H.T., Prashith Kekuda T.R.: Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and unripe citrus fruits. *Chem. Sci. Trans.*, 2012, 1 (2), 303-310.

- [15] Sanches-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, 96, 270-276.
- [16] Shyi-Neng L., Chi-Tang H.: Phenolic compounds and biological activities of small-size citrus: Kumquat and calamondin. *J. Food Drug Anal.*, 2017, 25, 162-175.
- [17] Shyi-Neng L., Yi-Chun L., Jia-De H., Chi-Tang H., Lin-Huei A.F., Yung-Chung C.: Drying effect of flavonoid composition and antioxidant activity of immature kumquat. *Food Chem.*, 2014, 171, 356-363.
- [18] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enology Viticulture*, 1965, 16, 144-153.
- [19] Stawarska A., Dębowska D., Tokarz A.: Analiza zawartości wybranych cukrów w sokach owocowych i nektarach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2016, XLIX (3), 412-416.
- [20] The Observatory of Economic Complexity, 2018: Where does Poland import oranges, fresh or dried from? [on line]. OEC. Dostęp w Internecie [30.11.2019]: https://oec.world/en/visualize/tree_map/hs92/import/pol/show/080510/2017/
- [21] Food and Agricultural Organization of the United Nations: Top production of oranges 2013 – choose Production, Crops, World in the left margin and picklist. *FAO Statistics*, 2013.

ASSESSING SOME SELECTED QUALITY FEATURES OF CITRUS FRUITS

S u m m a r y

Citrus fruits are a rich source of antioxidant substances. The antioxidants contained therein, especially apigenin and naringenin, are of vital importance for the proper functioning of human body. Among other things, they support the prevention of cardiovascular and cancer diseases. Regular consumption of citrus fruits can have a beneficial effect on human health. Citrus fruits are quite often consumed by the Polish consumers owing to their physicochemical parameters, valuable nutritional properties and sensory values. Thus, on the Polish market continuously appear citrus fruits that are unknown to the Polish consumers, for example a fruit of kumquat that is characterised by good antioxidant properties.

The objective of the research study was to compare the antioxidant properties of pomelo and kumquat with those of oranges and clementines. The research study involved the determination of the total content of polyphenolic compounds [mg GAE/100 g] and antioxidant activity [%]. Additionally, there were determined the content of general extract [%] and the content of reducing sugars [%]. Based on the analysis of the results obtained, it was found that, compared to other fruits analysed, the kumquat fruit had the highest total polyphenol concentration (52.82 mg GAE/100 g) and that it was characterised by the highest antioxidant activity (60.03 %) and, at the same time, by a low content of directly reducing sugars (10.93 %); therefore the kumquat appeared to be the most valuable fruit in terms of nutrition.

Key words: citrus fruits, kumquat, polyphenols, antioxidant activity, reducing sugars, general extract ☒

NATALIA ŻUREK, IRENEUSZ KAPUSTA, TOMASZ CEBULAK

WPLYW WARUNKÓW EKSTRAKCJI NA POTENCJAŁ PRZECIWUTLENIAJĄCY WYCIĄGÓW Z KWIATÓW, LIŚCI I OWOCÓW GŁOGU (*CRATAEGUS* × *MACROCARPA* L.)

Streszczenie

Głóg należy do roślin o dużej zawartości związków biologicznie czynnych, których stężenie w gotowym wyciągu zależy między innymi od zastosowanych parametrów ekstrakcji. Celem pracy była optymalizacja warunków ekstrakcji (temperatury, czasu i stężenia rozpuszczalników) zapewniających osiągnięcie jak największego potencjału przeciwutleniającego preparatów otrzymanych z liofilizowanych części anatomicznych głogu (*Crataegus* × *macrocarpa* L.) – z kwiatów, liści i owoców. Ekstrakcję prowadzono w temp. 20 ± 2 °C przy użyciu trzech rozpuszczalników, w dwóch stężeniach każdy, w ciągu 2 i 24 h. Porównano również efektywność ekstrakcji wspomaganą działaniem ultradźwięków. Potencjał przeciwutleniający określono metodami: ABTS^{•+}, DPPH[•], FRAP i CUPRAC oraz za pomocą testu mocy redukującej. Dodatkowo oznaczono zawartość polifenoli i flawonoidów.

W uzyskaniu wyciągów z kwiatów głogu najbardziej skuteczna okazała się 24-godzinna ekstrakcja 70-procentowym acetonem z dodatkiem 1-procentowego kwasu mrówkowego. Ekstrakty te charakteryzowały się najwyższymi wartościami potencjału przeciwutleniającego ABTS^{•+}, CUPRAC i FRAP. Z kolei w wyciągach z owoców, jak i liści głogu najwyższy potencjał przeciwutleniający stwierdzono po 24-godzinnej ekstrakcji wspomaganą dwukrotnym działaniem ultradźwięków. Najwyższe wartości określonego potencjału wyciągów z owoców głogu ekstrahowanych 50-procentowym acetonem uzyskano po zastosowaniu metody ABTS^{•+} i CUPRAC, natomiast w ekstraktach z liści głogu – po zastosowaniu metody DPPH[•], CUPRAC oraz testu mocy redukującej. Pod względem potencjału przeciwutleniającego najbardziej efektywnym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji liofilizatów z głogu jest 70-procentowy roztwór acetonowo-wodny, wspomagany ultradźwiękami bądź 1-procentowym kwasem mrówkowym.

Słowa kluczowe: głóg, ekstrakcja, potencjał przeciwutleniający, flawonoidy, polifenole ogółem

Wprowadzenie

Rodzaj *Crataegus* L. (głóg), należący do rodziny różowatych (*Rosacea*), obejmuje ok. 300 gatunków krzewów i drzew szeroko rozpowszechnionych w Europie, Azji

Mgr inż. N. Żurek, dr hab. I. Kapusta, prof. UR, dr inż. T. Cebulak, Zakład Ogólnej Technologii Żywności i Żywnienia Człowieka, Instytut Technologii Żywności i Żywnienia, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Żelazowicza 4, 35-601 Rzeszów. Kontakt: nataliazurek7@gmail.com

i Ameryce Północnej [7]. Głóg jest rośliną dziko rosnącą w lasach i zaroślach w postaci ciernistych, rozgałęzionych 2 - 5-metrowych krzewów lub drzew osiagających wysokość do 8 metrów [10]. W Polsce występuje pospolicie w niższych partiach górskich oraz na niżu, zwłaszcza zachodnim. Głóg zaliczany jest do roślin o długiej historii stosowania w ziołolecznictwie i tradycyjnej medycynie chińskiej. Wyciągi z kwiatostanów, liści lub owoców głogu wykorzystywane były jako środek ściągający, uspokajający i moczopędny [18, 21]. Obecnie surowce pochodzące z głogu w największym stopniu znane są z korzystnego wpływu na układ sercowo-naczyniowy. Wieloma badaniami klinicznymi potwierdzono ich działanie antyarytmiczne, antyagregacyjne, hipotensyjne i hipolipidemiczne [1, 5, 19].

Wymienione właściwości prozdrowotne, potwierdzone w badaniach *in vitro* i *in vivo*, wynikają z dużej zawartości w głogu związków biologicznie aktywnych, w tym w głównej mierze flawonoidów i procyanidyn, wykazujących wysoki potencjał przeciwutleniający [5, 17]. Spośród zidentyfikowanych do tej pory 25 flawonoidów, do najważniejszych należą: flawony (witeksyna) oraz flawonole, w tym pochodne kwercetyny (rutozyd, hiperozyd), a spośród procyanidyn – oligomeryczne proantocyjanidyny. W kwiatach, owocach i liściach obecne są również kwasy: fenolowe (chlorogenowy i kawowy), trójterpenowe (oleanowy, ursolowy), organiczne (szczawiovowy i winowy) oraz składniki mineralne [7, 9, 15].

Stopień zawartości tych związków w poszczególnych częściach rośliny zależy od wielu czynników, w tym przede wszystkim od gatunku oraz warunków środowiskowych, jak rodzaj gleby i ekspozycja na słońce [12, 14]. Równie ważnym zagadnieniem jest wybór metody ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z materiału roślinnego. Warunki ekstrakcji wynikające z zastosowanej metody ekstrakcji, tj. temperatura, czas trwania ekstrakcji, stan fizyczny surowca lub stopień jego homogenizacji wpływają na efektywność pozyskiwania fitozwiązków z materiału roślinnego. Stąd prowadzone są badania nad optymalizacją i intensyfikacją procesu ekstrakcji w odniesieniu do konkretnych surowców [8, 11, 17]. Klasyczne metody ekstrakcji, jak maceracja czy ekstrakcja w aparacie Soxhleta są coraz częściej modyfikowane bądź zastępowane przez nowo opracowane techniki. W ostatnich latach dużego znaczenia nabrała m.in. ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (SFE), ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (MAE) lub ultradźwiękami (UAE) oraz ekstrakcja rozpuszczalnikiem pod zwiększonym ciśnieniem (PFE) [4, 23].

Celem pracy była optymalizacja warunków ekstrakcji (temperatury, czasu i stężenia rozpuszczalników) zapewniających osiągnięcie jak największego potencjału przeciwutleniającego preparatów otrzymanych z liofilizowanych części anatomicznych głogu – z kwiatów, liści i owoców.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były kwiaty, liście i owoce z krzewu głogu (*Crataegus × macrocarpa* L.) zebrane w 2016 roku na terenie miejscowości Błazowa. Świeży surowiec poddawano liofilizacji (liofilizator ALPHA 1-2 LD plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Niemcy), rozdrabnianiu w mrożdzierzu, a następnie przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach w warunkach zamrażalniczych ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) do momentu analizy. Rozdrobniony materiał ekstrahowano za pomocą trzech różnych rozpuszczalników: wodnych roztworów metanolu (CH_3OH), etanolu ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) i acetonu ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) w dwóch stężeniach (50 i 70 % v/v). Ekstrakcję prowadzono w trzech wariantach:

- w temp. $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, przez 2 i 24 h,
- w temp. $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, z dwukrotnym oddziaływaniem ultradźwiękami (20 min, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$), przez 2 i 24 h,
- w temp. $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, z udziałem 1-procentowego kwasu mrówkowego w mieszaninie ekstrakcyjnej, przez 2 i 24 h.

Po przeprowadzonej ekstrakcji mieszaninę odwirowywano (7 tys. obr./min) przy użyciu wirówki Centrifuge 5430 (Eppendorf Poland, Polska).

Charakterystyka fitochemiczna otrzymanych ekstraktów obejmowała określenie potencjału przeciwutleniającego z wykorzystaniem kationorodnika $\text{ABTS}^{\cdot+}$ [16], rodnika DPPH^{\cdot} [22], metody CUPRAC [15], FRAP [3] oraz z zastosowaniem pomiaru mocy redukującej (AAE) [13]. Dodatkowo w badanych ekstraktach oznaczano całkowitą zawartość polifenoli (TPC) [20] oraz całkowitą zawartość flawonoidów (TFC) [8].

Pomiary absorbancji prowadzono przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Evolution 300 (Thermo Fisher Scientific, USA). Wyniki uzyskane metodami z rodnikiem $\text{ABTS}^{\cdot+}$ i DPPH^{\cdot} oraz FRAP i CUPRAC wyrażano w mmol równoważników troloksu (TE) na 100 g suchej masy [mmol TE/100 g s.m.]. Moc redukującą określano poprzez pomiar absorbancji (A) badanych ekstraktów o stężeniu 1 mg/ml przy długości fali $\lambda = 700\text{ nm}$. Wyższa absorbancja wskazuje na wyższą moc redukującą. Całkowitą zawartość polifenoli wyrażano w mg kwasu galusowego (GAE) na 1 g suchej masy [mg GAE/g s.m.], zaś całkowitą zawartość flawonoidów – w mg kwercetyny (QE) na 1 g suchej masy [mg QE/g s.m.]. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki poddano analizie statystycznej w programie Statistica 12.0 (StatSoft, USA). Obliczono współczynniki korelacji Pearsona oraz przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Do zweryfikowania istotności różnic między wartościami średnimi zastosowano test Duncana ($p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń przedstawiono w tab. 1 - 3.

Tabela 1. Potencjał przeciwutleniający oraz zawartość polifenoli i flawonoidów w ekstraktach z kwiatów głogu

Table 1. Antioxidant potential and content of polyphenols and flavonoids in hawthorn flower extracts

Warunki ekstrakcji Extraction conditions		Rozpuszczalnik / Solvent						
		CH ₃ OH [%]		C ₂ H ₅ OH [%]		C ₃ H ₆ O [%]		
		50	70	50	70	50	70	
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C	2 h	1	47,1 ^a ± 0,5	57,5 ^b ± 0,7	52,6 ^c ± 1,1	54,2 ^c ± 2,3	81,6 ^d ± 1,3	84,4 ^d ± 1,7
		2	19,5 ^a ± 0,0	27,3 ^c ± 0,3	22,6 ^b ± 0,1	27,9 ^c ± 0,2	30,6 ^d ± 0,1	31,2 ^e ± 0,1
		3	46,0 ^a ± 0,1	61,8 ^b ± 0,1	52,4 ^c ± 0,1	64,4 ^d ± 0,2	81,3 ^e ± 0,1	90,9 ^f ± 0,1
		4	17,9 ^a ± 0,1	26,9 ^b ± 0,1	20,2 ^c ± 0,1	27,9 ^d ± 0,3	34,3 ^e ± 0,1	42,2 ^f ± 0,1
		5	51,4 ^a ± 0,7	66,1 ^b ± 0,7	59,2 ^c ± 1,0	69,1 ^d ± 0,0	79,6 ^e ± 1,1	90,7 ^f ± 0,6
		6	13,1 ^a ± 0,0	13,4 ^b ± 0,0	14,3 ^c ± 0,0	14,6 ^d ± 0,0	17,9 ^e ± 0,0	18,2 ^f ± 0,0
		7	0,47 ^a ± 0,0	0,69 ^b ± 0,0	0,44 ^c ± 0,0	0,68 ^d ± 0,0	0,97 ^e ± 0,0	1,22 ^f ± 0,0
	24 h	1	36,3 ^a ± 0,1	45,7 ^b ± 0,6	46,0 ^b ± 0,4	48,5 ^c ± 0,3	67,5 ^d ± 0,2	78,5 ^e ± 0,1
		2	21,6 ^a ± 0,0	22,2 ^a ± 0,1	23,2 ^b ± 0,0	25,7 ^c ± 0,2	28,0 ^e ± 0,0	28,4 ^f ± 0,0
		3	49,5 ^a ± 0,0	54,3 ^b ± 0,0	54,7 ^c ± 0,1	59,4 ^d ± 0,1	75,3 ^e ± 0,1	83,6 ^f ± 0,1
		4	20,6 ^a ± 0,1	21,8 ^b ± 0,1	23,6 ^c ± 0,1	24,9 ^d ± 0,0	28,0 ^e ± 0,1	33,7 ^f ± 0,1
		5	50,8 ^a ± 0,0	64,5 ^b ± 0,1	57,4 ^c ± 0,1	68,3 ^d ± 0,1	78,9 ^e ± 0,1	89,4 ^f ± 0,1
		6	12,5 ^a ± 0,0	12,2 ^a ± 0,0	13,4 ^b ± 0,0	13,9 ^b ± 0,0	20,6 ^c ± 0,0	16,3 ^d ± 0,0
		7	0,48 ^a ± 0,0	0,54 ^b ± 0,0	0,41 ^c ± 0,0	0,62 ^d ± 0,0	0,62 ^d ± 0,0	0,85 ^e ± 0,0
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C, łaźnia ultra- dźwiękowa ultrasonic bath: 2 × (35 °C, 20 min)	2 h	1	44,2 ^a ± 1,3	50,0 ^b ± 1,1	60,9 ^c ± 0,5	59,0 ^c ± 0,7	80,2 ^d ± 2,8	73,9 ^e ± 2,0
		2	16,5 ^a ± 0,1	24,4 ^b ± 0,1	24,0 ^b ± 0,1	27,8 ^c ± 0,0	29,1 ^d ± 0,1	29,9 ^d ± 0,2
		3	40,1 ^a ± 0,0	59,2 ^b ± 0,0	55,2 ^c ± 0,1	62,5 ^d ± 0,0	73,7 ^d ± 0,3	78,2 ^e ± 0,0
		4	16,1 ^a ± 0,1	25,8 ^b ± 0,3	21,3 ^c ± 0,1	27,2 ^d ± 0,1	29,2 ^d ± 0,2	36,3 ^e ± 0,1
		5	46,9 ^a ± 0,3	61,6 ^b ± 0,5	58,3 ^c ± 0,2	64,2 ^d ± 0,1	72,2 ^d ± 0,3	79,1 ^e ± 1,5
		6	13,1 ^a ± 0,0	14,5 ^b ± 0,0	14,6 ^b ± 0,0	14,5 ^b ± 0,0	17,3 ^c ± 0,0	17,1 ^c ± 0,0
		7	0,37 ^a ± 0,0	0,60 ^b ± 0,0	0,36 ^a ± 0,0	0,59 ^b ± 0,0	0,90 ^c ± 0,0	1,04 ^e ± 0,0
	24 h	1	32,5 ^a ± 0,1	59,4 ^b ± 0,7	38,9 ^c ± 0,4	48,2 ^d ± 0,5	57,0 ^e ± 0,0	65,6 ^f ± 0,3
		2	18,7 ^a ± 0,2	27,5 ^b ± 0,0	23,1 ^c ± 0,1	25,7 ^d ± 0,1	26,1 ^d ± 0,1	26,2 ^d ± 0,0
		3	44,5 ^a ± 0,1	67,9 ^b ± 0,1	49,8 ^c ± 0,1	60,3 ^d ± 0,1	67,4 ^b ± 0,1	71,2 ^e ± 0,1
		4	18,8 ^a ± 0,1	30,6 ^b ± 0,1	22,5 ^c ± 0,2	24,9 ^d ± 0,1	23,9 ^e ± 0,0	28,3 ^f ± 0,1
		5	47,8 ^a ± 0,1	63,0 ^b ± 0,1	59,5 ^c ± 0,2	61,6 ^b ± 0,1	70,6 ^d ± 0,3	74,9 ^e ± 0,1
		6	12,3 ^a ± 0,0	14,9 ^b ± 0,0	14,5 ^b ± 0,0	14,5 ^b ± 0,0	19,8 ^c ± 0,0	15,8 ^d ± 0,0
		7	0,43 ^a ± 0,0	0,79 ^b ± 0,0	0,49 ^c ± 0,0	0,66 ^d ± 0,0	0,73 ^e ± 0,0	1,04 ^f ± 0,0
Temperatura Temperature:	2 h	1	55,8 ^a ± 0,4	57,1 ^a ± 0,1	68,6 ^b ± 1,8	68,2 ^b ± 1,8	87,1 ^c ± 1,9	87,3 ^c ± 1,8
		2	16,9 ^a ± 0,8	19,2 ^a ± 0,1	17,7 ^a ± 0,6	18,0 ^a ± 0,3	18,6 ^a ± 0,3	21,9 ^b ± 0,1

20 ± 2 °C, dodatek 1-procentowego kwasu mrówkowego 1 % formic acid added		3	63,9 ^a ± 0,1	76,1 ^b ± 0,0	64,3 ^a ± 0,8	71,3 ^c ± 0,0	90,8 ^d ± 0,7	99,9 ^e ± 0,0	
		4	26,1 ^a ± 0,5	29,8 ^b ± 0,1	28,3 ^b ± 0,0	30,1 ^b ± 0,1	39,9 ^c ± 0,3	43,4 ^d ± 0,0	
		5	66,6 ^a ± 0,1	74,8 ^b ± 0,1	67,1 ^a ± 0,1	79,9 ^c ± 0,4	90,2 ^d ± 0,1	93,7 ^d ± 0,1	
		6	14,5 ^a ± 0,0	15,9 ^b ± 0,0	14,8 ^a ± 0,1	15,6 ^b ± 0,0	16,2 ^b ± 0,0	18,8 ^c ± 0,0	
		7	0,42 ^a ± 0,0	0,77 ^b ± 0,0	0,49 ^c ± 0,0	0,72 ^d ± 0,0	0,73 ^d ± 0,0	1,38 ^c ± 0,0	
		24 h	1	58,7 ^a ± 1,1	63,5 ^b ± 0,4	63,8 ^b ± 0,2	59,1 ^a ± 0,1	96,8 ^c ± 0,4	143,8 ^d ± 2,1
			2	19,4 ^a ± 0,1	18,1 ^b ± 0,1	16,9 ^c ± 0,1	17,5 ^c ± 0,0	17,4 ^c ± 0,1	26,6 ^d ± 0,1
	3		65,9 ^a ± 0,1	71,3 ^b ± 0,1	69,3 ^c ± 0,1	69,3 ^c ± 0,1	101,5 ^d ± 0,1	147,5 ^e ± 0,1	
	4		27,1 ^a ± 0,1	32,2 ^b ± 0,1	32,0 ^b ± 0,1	29,4 ^c ± 0,1	43,9 ^d ± 0,0	57,3 ^c ± 0,2	
	5		65,2 ^a ± 0,1	72,9 ^b ± 0,1	65,5 ^a ± 0,1	79,8 ^c ± 0,0	92,8 ^d ± 0,1	95,9 ^c ± 1,0	
	6		12,6 ^a ± 0,0	14,2 ^b ± 0,1	13,5 ^c ± 0,0	13,4 ^c ± 0,0	16,8 ^d ± 0,0	16,9 ^d ± 0,0	
	7		0,41 ^a ± 0,0	0,76 ^b ± 0,0	0,48 ^c ± 0,0	0,70 ^d ± 0,0	0,72 ^c ± 0,0	1,35 ^f ± 0,0	

Objaśnienia / Explanatory notes:

1 – ABTS^{•+} [mmol TE/100 g s.m. / d.m]; 2 – DPPH[•] [mmol TE/100 g s.m. / d.m.]; 3 – CUPRAC [mmol TE/100 g s.m. / d.m.]; 4 – FRAP [mmol TE/100 g s.m. / d.m.]; 5 – TPC [mg GAE/g s.m. / d.m.]; 6 – TFC [mg QE/g s.m. / d.m]; 7 – AAE [A; 700 nm]. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations.; a - f – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05 / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly at p ≤ 0.05.

Tabela 2. Potencjał przeciwutleniający oraz zawartość polifenoli i flawonoidów w ekstraktach z liści głogu

Table 2. Antioxidant potential and content of polyphenols and flavonoids in hawthorn leaves extracts

Warunki ekstrakcji Extraction conditions		Rozpuszczalnik / Solvent						
		CH ₃ OH [%]		C ₂ H ₅ OH [%]		C ₃ H ₆ O [%]		
		50	70	50	70	50	70	
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C	2 h	1	47,6 ^a ± 1,0	49,6 ^b ± 0,7	40,0 ^c ± 0,8	45,7 ^d ± 1,1	68,1 ^e ± 0,4	68,6 ^e ± 0,0
		2	25,9 ^a ± 0,5	33,8 ^b ± 0,1	40,9 ^c ± 0,1	38,0 ^d ± 0,2	44,0 ^e ± 0,2	39,3 ^f ± 0,1
		3	38,2 ^a ± 0,0	40,4 ^b ± 0,0	40,4 ^b ± 0,0	44,5 ^c ± 0,0	56,3 ^d ± 0,0	56,9 ^d ± 0,0
		4	20,6 ^a ± 0,1	21,1 ^b ± 0,2	25,1 ^c ± 0,3	23,8 ^d ± 0,2	28,3 ^d ± 0,2	27,3 ^e ± 0,1
		5	59,5 ^a ± 0,3	58,8 ^b ± 0,2	61,5 ^c ± 0,2	61,1 ^c ± 0,3	73,5 ^d ± 0,3	70,8 ^f ± 0,3
		6	7,1 ^a ± 0,0	6,1 ^b ± 0,0	8,3 ^c ± 0,0	11,4 ^d ± 0,0	10,2 ^e ± 0,0	16,5 ^f ± 0,0
		7	0,39 ^a ± 0,0	0,31 ^b ± 0,0	0,39 ^c ± 0,0	0,42 ^d ± 0,0	0,57 ^e ± 0,0	0,62 ^f ± 0,0
	24 h	1	56,9 ^a ± 1,3	55,6 ^a ± 0,8	55,8 ^a ± 0,4	60,6 ^b ± 1,4	56,7 ^a ± 0,6	65,7 ^c ± 0,2
		2	37,8 ^a ± 0,2	34,9 ^b ± 0,2	36,1 ^c ± 0,2	45,9 ^d ± 0,0	42,7 ^e ± 0,2	46,5 ^f ± 0,0
		3	53,8 ^a ± 0,3	52,0 ^b ± 0,1	57,3 ^c ± 0,1	59,1 ^c ± 3,3	58,3 ^c ± 0,1	54,7 ^a ± 0,1
		4	29,5 ^a ± 0,1	26,6 ^b ± 0,1	27,6 ^c ± 0,2	25,6 ^d ± 0,1	34,3 ^e ± 0,1	26,3 ^f ± 0,0
		5	57,5 ^a ± 0,7	58,8 ^b ± 0,7	56,8 ^a ± 0,3	69,1 ^c ± 0,0	59,0 ^b ± 0,5	63,3 ^d ± 0,5
		6	9,1 ^a ± 0,0	12,4 ^b ± 0,0	10,2 ^c ± 0,0	12,9 ^d ± 0,0	12,6 ^e ± 0,0	16,1 ^f ± 0,0
		7	0,38 ^a ± 0,0	0,30 ^b ± 0,0	0,37 ^c ± 0,0	0,41 ^d ± 0,0	0,57 ^e ± 0,0	0,63 ^f ± 0,0

Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C, łaźnia ultradźwiękowa ultrasonic bath: 2 × (35 °C, 20 min)	2 h	1	41,5 ^a ± 0,3	47,8 ^b ± 0,6	49,4 ^b ± 0,8	49,1 ^b ± 0,2	58,7 ^c ± 1,8	61,3 ^d ± 0,5
		2	32,6 ^a ± 0,3	32,1 ^a ± 0,2	45,8 ^b ± 0,1	37,4 ^c ± 0,1	36,5 ^d ± 0,6	36,8 ^{cd} ± 0,2
		3	37,1 ^a ± 0,1	43,6 ^b ± 0,1	43,2 ^c ± 0,1	44,5 ^d ± 0,0	52,7 ^e ± 0,1	51,8 ^f ± 0,1
		4	20,3 ^a ± 0,0	19,7 ^b ± 0,2	22,5 ^c ± 0,2	24,9 ^d ± 0,0	28,9 ^e ± 0,2	27,1 ^f ± 0,1
		5	55,2 ^a ± 0,8	60,2 ^b ± 0,7	58,5 ^b ± 0,8	60,7 ^b ± 0,7	69,5 ^c ± 0,8	69,2 ^c ± 0,8
		6	7,7 ^a ± 0,0	8,8 ^b ± 0,0	11,6 ^c ± 0,1	13,6 ^d ± 0,4	9,7 ^e ± 0,1	15,1 ^f ± 0,1
		7	0,35 ^a ± 0,0	0,43 ^b ± 0,0	0,45 ^c ± 0,0	0,39 ^d ± 0,0	0,69 ^e ± 0,0	0,60 ^f ± 0,0
	24 h	1	44,9 ^a ± 0,7	50,0 ^b ± 0,3	53,7 ^c ± 2,7	66,4 ^d ± 0,4	76,9 ^e ± 1,5	68,8 ^f ± 1,9
		2	32,9 ^a ± 0,1	38,5 ^b ± 0,2	43,0 ^c ± 0,2	37,3 ^b ± 0,1	62,7 ^d ± 0,2	57,8 ^e ± 0,1
		3	43,7 ^a ± 0,0	48,8 ^b ± 0,0	49,7 ^c ± 0,0	50,2 ^c ± 0,6	69,8 ^d ± 0,3	56,5 ^e ± 0,1
		4	19,5 ^a ± 0,1	23,9 ^b ± 0,1	34,2 ^c ± 0,2	38,3 ^d ± 0,1	34,4 ^c ± 0,1	28,2 ^c ± 0,1
		5	48,3 ^a ± 0,3	54,9 ^b ± 0,3	62,6 ^c ± 0,3	58,0 ^d ± 0,3	79,6 ^e ± 0,3	77,4 ^f ± 0,3
		6	7,1 ^a ± 0,0	8,5 ^b ± 0,0	9,5 ^c ± 0,0	12,2 ^d ± 0,0	10,9 ^e ± 0,0	15,8 ^f ± 0,0
		7	0,33 ^a ± 0,0	0,42 ^b ± 0,0	0,43 ^c ± 0,0	0,39 ^d ± 0,0	0,82 ^e ± 0,0	0,59 ^f ± 0,0
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C, dodatek 1-procentowego kwasu mrówkowego 1 % formic acid added	2 h	1	35,3 ^a ± 2,4	56,3 ^b ± 0,6	59,9 ^c ± 1,5	71,1 ^d ± 1,0	74,2 ^d ± 0,9	59,3 ^{bc} ± 1,6
		2	29,4 ^a ± 0,2	27,8 ^b ± 0,2	38,2 ^c ± 0,0	44,1 ^d ± 0,1	43,1 ^e ± 0,0	36,9 ^f ± 0,1
		3	46,6 ^a ± 0,1	46,2 ^b ± 0,0	52,5 ^c ± 0,0	67,4 ^d ± 0,0	63,4 ^e ± 0,0	49,9 ^f ± 0,0
		4	23,7 ^a ± 0,3	24,8 ^b ± 0,2	26,5 ^c ± 0,1	27,3 ^d ± 0,1	31,2 ^e ± 0,1	23,2 ^f ± 0,0
		5	57,9 ^a ± 0,1	59,2 ^b ± 0,2	67,9 ^c ± 0,3	72,5 ^d ± 0,5	73,7 ^e ± 0,5	66,5 ^f ± 0,4
		6	9,0 ^a ± 0,2	9,1 ^a ± 0,0	10,0 ^b ± 0,2	11,2 ^c ± 0,0	11,4 ^c ± 0,0	16,2 ^d ± 0,0
		7	0,49 ^a ± 0,0	0,59 ^b ± 0,0	0,56 ^c ± 0,0	0,53 ^d ± 0,0	0,68 ^e ± 0,0	0,81 ^f ± 0,0
	24 h	1	58,5 ^a ± 0,2	65,2 ^b ± 1,2	72,3 ^c ± 1,6	69,3 ^{bc} ± 2,6	78,7 ^d ± 1,3	87,8 ^e ± 2,9
		2	31,8 ^a ± 0,2	38,6 ^b ± 0,2	32,6 ^c ± 0,0	32,4 ^d ± 0,1	42,3 ^e ± 0,0	34,9 ^f ± 0,1
		3	44,0 ^a ± 0,0	50,6 ^b ± 0,0	56,1 ^c ± 0,0	51,2 ^d ± 0,0	64,5 ^e ± 0,1	61,8 ^f ± 0,0
		4	22,7 ^a ± 0,1	20,2 ^b ± 0,1	24,7 ^c ± 0,0	21,9 ^d ± 0,1	27,4 ^e ± 0,5	29,1 ^f ± 0,1
		5	57,8 ^a ± 1,3	66,4 ^b ± 1,4	75,9 ^c ± 1,3	64,1 ^b ± 0,9	73,9 ^c ± 0,9	62,9 ^d ± 0,3
		6	7,7 ^a ± 0,2	9,3 ^b ± 0,2	8,5 ^c ± 0,2	10,6 ^d ± 0,2	9,5 ^b ± 0,2	19,4 ^e ± 0,2
		7	0,46 ^a ± 0,0	0,57 ^b ± 0,0	0,55 ^c ± 0,0	0,52 ^d ± 0,0	0,79 ^e ± 0,0	0,82 ^f ± 0,0

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

Tabela 3. Potencjał przeciwutleniający oraz zawartość polifenoli i flawonoidów w ekstraktach z owoców głogu

Table 3. Antioxidant potential and content of polyphenols and flavonoids in hawthorn fruits extracts

Warunki ekstrakcji Extraction conditions		Rozpuszczalnik / Solvent						
		CH ₃ OH [%]		C ₂ H ₅ OH [%]		C ₃ H ₆ O [%]		
		50	70	50	70	50	70	
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C	2 h	1	67,0 ^a ± 0,6	61,5 ^b ± 0,1	58,3 ^c ± 0,0	64,2 ^d ± 0,1	73,1 ^e ± 0,0	77,3 ^f ± 0,0
		2	24,1 ^a ± 0,9	25,2 ^b ± 0,1	19,7 ^c ± 0,9	23,8 ^a ± 0,8	25,9 ^{bd} ± 0,3	25,5 ^{bd} ± 0,3
		3	33,9 ^a ± 0,0	39,7 ^b ± 0,0	30,6 ^c ± 0,0	42,1 ^d ± 0,0	49,1 ^e ± 0,0	44,6 ^f ± 0,1
		4	6,2 ^a ± 0,0	17,3 ^b ± 0,0	8,6 ^c ± 0,0	17,1 ^d ± 0,0	21,9 ^e ± 0,0	34,3 ^f ± 0,0
		5	29,4 ^a ± 0,1	45,7 ^b ± 0,0	37,6 ^c ± 0,5	50,0 ^d ± 0,2	55,6 ^e ± 0,3	76,3 ^f ± 0,2
		6	4,5 ^a ± 0,0	2,6 ^b ± 0,0	3,8 ^c ± 0,0	2,7 ^d ± 0,0	3,5 ^e ± 0,0	3,0 ^f ± 0,0

	24 h	7	0,25 ^a ± 0,0	0,38 ^b ± 0,0	0,25 ^a ± 0,0	0,38 ^b ± 0,0	0,56 ^c ± 0,0	0,73 ^d ± 0,0
		1	38,5 ^a ± 2,2	58,5 ^b ± 2,7	35,7 ^c ± 1,9	55,7 ^d ± 2,2	67,7 ^e ± 2,3	67,5 ^e ± 2,7
		2	15,3 ^a ± 0,6	24,1 ^b ± 0,6	18,3 ^c ± 0,7	24,8 ^b ± 0,2	27,2 ^d ± 0,7	26,6 ^d ± 0,7
		3	28,1 ^a ± 0,0	44,2 ^b ± 0,0	28,7 ^c ± 0,0	41,2 ^d ± 0,0	51,4 ^e ± 0,2	50,8 ^f ± 0,1
		4	8,2 ^a ± 0,0	18,0 ^b ± 0,1	9,5 ^c ± 0,0	17,9 ^b ± 0,0	24,3 ^d ± 0,2	33,6 ^f ± 0,1
		5	30,1 ^a ± 0,1	46,0 ^b ± 0,1	39,6 ^c ± 0,1	49,4 ^d ± 0,0	54,2 ^e ± 0,1	73,1 ^f ± 0,1
		6	4,6 ^a ± 0,0	2,7 ^b ± 0,0	3,8 ^c ± 0,0	2,8 ^d ± 0,1	3,5 ^e ± 0,0	3,1 ^f ± 0,0
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C, łaźnia ultradźwiękowa ultrasonic bath: 2 × (35 °C, 20 min)	2 h	1	61,3 ^a ± 0,0	73,9 ^b ± 0,1	73,0 ^b ± 0,1	72,4 ^c ± 0,1	67,9 ^d ± 0,1	84,3 ^e ± 0,1
		2	24,9 ^a ± 0,9	26,7 ^b ± 0,9	24,1 ^a ± 0,9	23,8 ^a ± 0,9	23,1 ^a ± 0,9	23,8 ^a ± 0,8
		3	43,6 ^a ± 0,1	47,6 ^b ± 0,2	47,0 ^c ± 0,1	45,9 ^d ± 0,0	49,5 ^e ± 0,0	48,4 ^f ± 0,0
		4	9,7 ^a ± 0,0	23,3 ^b ± 0,0	14,1 ^c ± 0,0	19,7 ^d ± 0,0	20,2 ^e ± 0,1	37,7 ^f ± 0,1
		5	38,1 ^a ± 0,2	58,4 ^b ± 0,0	47,9 ^c ± 0,2	54,7 ^d ± 0,0	60,4 ^e ± 0,0	84,7 ^f ± 0,2
		6	4,7 ^a ± 0,0	2,3 ^b ± 0,0	4,4 ^c ± 0,0	2,6 ^d ± 0,0	4,5 ^e ± 0,0	2,8 ^f ± 0,0
		7	0,26 ^a ± 0,0	0,49 ^b ± 0,0	0,36 ^c ± 0,0	0,44 ^d ± 0,0	0,52 ^e ± 0,0	0,83 ^f ± 0,0
	24 h	1	60,5 ^a ± 0,0	57,7 ^b ± 1,1	55,7 ^c ± 0,1	57,5 ^b ± 0,6	79,2 ^d ± 0,2	63,7 ^e ± 0,0
		2	25,2 ^a ± 0,5	26,9 ^b ± 0,4	26,8 ^b ± 0,1	24,9 ^a ± 0,5	25,3 ^a ± 0,7	25,1 ^a ± 0,4
		3	41,6 ^a ± 0,1	45,9 ^b ± 0,2	43,9 ^c ± 0,1	50,2 ^d ± 0,2	56,1 ^e ± 0,1	54,0 ^f ± 0,1
		4	9,8 ^a ± 0,0	25,1 ^b ± 0,0	14,6 ^c ± 0,0	20,0 ^d ± 0,0	20,3 ^e ± 0,0	38,3 ^f ± 0,0
		5	39,9 ^a ± 0,1	55,2 ^b ± 0,1	46,5 ^c ± 0,0	54,8 ^b ± 0,0	62,2 ^d ± 0,0	85,9 ^e ± 0,1
		6	4,7 ^a ± 0,0	2,4 ^b ± 0,0	4,6 ^c ± 0,0	2,6 ^d ± 0,1	4,5 ^e ± 0,0	2,8 ^f ± 0,0
		7	0,26 ^a ± 0,0	0,49 ^b ± 0,0	0,37 ^c ± 0,0	0,54 ^d ± 0,0	0,53 ^d ± 0,0	0,85 ^e ± 0,0
Temperatura Temperature: 20 ± 2 °C, dodatek 1-procentowego kwasu mrówkowego 1 % formic acid added	2 h	1	50,3 ^a ± 0,4	51,0 ^b ± 0,4	42,0 ^c ± 0,3	61,5 ^d ± 0,5	59,3 ^c ± 0,2	54,1 ^f ± 0,4
		2	11,7 ^a ± 0,1	15,6 ^b ± 0,0	10,2 ^c ± 0,1	15,5 ^b ± 0,0	14,0 ^d ± 0,1	16,3 ^c ± 0,0
		3	28,0 ^a ± 0,1	28,9 ^b ± 0,1	30,0 ^c ± 0,1	31,7 ^d ± 0,1	41,0 ^e ± 0,1	38,3 ^f ± 0,0
		4	4,5 ^a ± 0,1	20,7 ^b ± 0,1	13,4 ^c ± 0,0	18,9 ^d ± 0,1	23,4 ^e ± 0,0	35,3 ^f ± 0,4
		5	30,3 ^a ± 0,1	54,5 ^b ± 0,1	44,6 ^c ± 0,1	52,9 ^d ± 0,1	62,3 ^e ± 0,3	77,6 ^f ± 0,0
		6	4,1 ^a ± 0,0	1,7 ^b ± 0,0	4,1 ^c ± 0,00	2,1 ^d ± 0,0	4,4 ^e ± 0,0	2,7 ^f ± 0,0
		7	0,16 ^a ± 0,0	0,41 ^b ± 0,0	0,37 ^c ± 0,0	0,44 ^d ± 0,0	0,58 ^e ± 0,0	0,75 ^f ± 0,0
	24 h	1	54,2 ^a ± 0,5	44,5 ^b ± 0,5	40,1 ^c ± 0,5	59,4 ^d ± 0,6	54,6 ^a ± 0,1	51,5 ^e ± 0,6
		2	17,5 ^a ± 0,0	18,9 ^b ± 0,1	10,8 ^c ± 0,0	21,9 ^d ± 0,0	16,1 ^e ± 0,0	20,4 ^f ± 0,1
		3	31,8 ^a ± 0,0	30,7 ^b ± 0,1	32,8 ^c ± 0,0	37,7 ^d ± 0,2	40,1 ^e ± 0,0	38,0 ^f ± 0,1
		4	4,6 ^a ± 0,0	20,1 ^b ± 0,0	13,2 ^c ± 0,1	19,0 ^d ± 0,1	21,3 ^e ± 0,0	31,3 ^f ± 0,0
		5	29,5 ^a ± 0,0	52,9 ^b ± 0,0	42,1 ^c ± 0,0	51,6 ^d ± 0,0	60,4 ^e ± 0,1	69,4 ^f ± 0,0
		6	3,9 ^a ± 0,0	1,7 ^b ± 0,0	3,8 ^c ± 0,0	2,1 ^d ± 0,1	4,2 ^e ± 0,0	2,7 ^f ± 0,1
		7	0,16 ^a ± 0,0	0,36 ^b ± 0,0	0,37 ^c ± 0,0	0,40 ^d ± 0,0	0,55 ^e ± 0,0	0,73 ^f ± 0,0

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

Ekstrakcja jest pierwszym etapem do wyodrębnienia pożądanych naturalnych fitozwiązków z matrycy materiału roślinnego. Kluczowym warunkiem wysokiej efektywności tego procesu jest odpowiedni dobór rozpuszczalnika. Do ekstrakcji związków o potencjale przeciwutleniającym z rośliny głogu najczęściej wykorzystywane są wodne roztwory metanolu, etanolu i acetonu, stąd w niniejszej pracy podjęto próbę wyboru najodpowiedniejszego rozpuszczalnika dla danej części anatomicznej rośliny.

W uzyskaniu najwyższego potencjału przeciwutleniającego ekstraktów z kwiatów głogu najskuteczniejszym rozpuszczalnikiem okazał się 70-procentowy wodny roztwór

acetonu z dodatkiem 1-procentowego kwasu mrówkowego. W ekstrakcie inkubowanym przez 24 h w temp. 20 ± 2 °C stwierdzono najwyższą średnią wartość tego potencjału, zarówno przy zastosowaniu metody z rodnikiem ABTS^{•+} (143,77 mmol TE/100 g s.m.), CUPRAC (147,53 mmol TE/100 g s.m.), FRAP (57,27 mmol TE/100 g s.m.), jak i testu mocy redukującej – 1,345. W przygotowanym ekstrakcie oznaczono również największą zawartość polifenoli – 95,96 mg GAE/g s.m. Najpowszechniej stosowanymi rozpuszczalnikami do ekstrakcji związków o właściwościach przeciwutleniających są alkohole (metanol, etanol), które były również najczęściej wykorzystywane do ekstrakcji części anatomicznych krzewów głogu przez innych autorów. Zawartość polifenoli w metanолоwym ekstrakcie z kwiatów głogu *C. monogyna*, którą oznaczyli Barros i wsp. [2], wyniosła średnio 330,32 mg GAE/g s.m. Wartość ta jest znacząco wyższa w stosunku do wyników uzyskanych w niniejszej pracy. Z kolei Bahari-Sahoul i wsp. [1] zbadali metanолоwe ekstrakty kwiatów głogu *C. azarolus var. aronia* inkubowane przez 48 h i stwierdzili średnią zawartość polifenoli równą 9,31 mg GAE/g s.m. W badaniach potencjału przeciwutleniającego kilkudziesięciu gatunków głogu z rejonu Turcji, w metanолоwych ekstraktach z kwiatów *C. monogyna Jacq. var. monogyna* określili metodami: CUPRAC, FRAP oraz ABTS^{•+} wartości potencjału przeciwutleniającego porównywalne z uzyskanymi w niniejszej pracy. W badaniach własnych roztwór metanolu okazał się najmniej efektywnym ekstrahentem. Przy jego 50-procentowym stężeniu, po 2-godzinnej ekstrakcji wspomagannej działaniem ultradźwięków stwierdzono metodami CUPRAC i FRAP oraz testem mocy redukującej wartości mniejsze odpowiednio o [%]: 73, 72 i 73 (tab. 1) w stosunku do wartości potencjału przeciwutleniającego 70-procentowego ekstraktu acetonowego. Stwierdzono również o 51 % mniejszą zawartość polifenoli ogółem.

Zarówno w wyciągach z owoców, jak i liści głogu najwyższy potencjał przeciwutleniający stwierdzono po 24-godzinnej ekstrakcji wspomagannej dwukrotnym działaniem ultradźwięków. W wyciągach z owoców głogu ekstrahowanych 50-procentowym acetonem najwyższe wartości potencjału przeciwutleniającego określono metodami: ABTS^{•+} (79,24 mmol TE/100 g s.m.) i CUPRAC (56,13 mmol TE/100 g s.m.), a przy zastosowaniu 70-procentowego acetonu – testem mocy redukującej (0,85), metodą FRAP (38,26 mmol TE/100 g s.m.) oraz oznaczono największą zawartość polifenoli (85,92 GAE/g s.m.). Ebrahimzadeh i wsp. [6] zbadali skuteczność ekstrakcji owoców głogu *C. pentaegyna* roztworami metanолоwymi oraz wodnymi i stwierdzili znacząco wyższy potencjał ekstraktów alkoholowych. Całkowita zawartość polifenoli w badanych wyciągach wyniosła 92,12 GAE/g s.m., zaś całkowita zawartość flawonoidów – 23,98 mg QE/g s.m. Tadic i wsp. [18] w wyciągu z owoców głogu ekstrahowanych 70-procentowym etanolem wykazali całkowitą zawartość polifenoli w ilości 35,40 mg GAE/g s.m. W badaniach własnych najmniej korzystnym ekstrahentem owoców głogu okazał się 50-procentowy wodny roztwór metanolu. W odniesieniu do wartości poda-

nych przez wymienionych autorów, ekstrakt własny inkubowany przez 2 h charakteryzował się o 66 % mniejszą całkowitą zawartością polifenoli, zaś z dodatkiem 1-procentowego roztworu kwasu mrówkowego – mniejszymi wartościami potencjału oznaczonego metodami: CUPRAC, FRAP oraz testem mocy redukującej odpowiednio o [%]: 55, 27 i 82.

W ekstraktach otrzymanych z liści głogu, przy użyciu 50-procentowego acetonu po 24-godzinnej ekstrakcji wspomaganą działaniem ultradźwięków, stwierdzono najwyższe wartości potencjału przeciwutleniającego oznaczonego metodami DPPH[•] (62,66 mmol TE/100 g s.m.) i CUPRAC (69,79 mmol TE/100 g s.m.), testem mocy redukującej (0,82) oraz największą zawartość polifenoli ogółem (79,65 mg GAE/g s.m.). Największą zawartość flawonoidów (19,45 mg QE/g s.m.) oraz najwyższą wartość potencjału oznaczonego metodą ABTS^{•+} (87,82 mmol TE/100 g s.m.) stwierdzono w preparatach z liści ekstrahowanych w ciągu 24 h 70-procentowym roztworem acetonu z dodatkiem 1-procentowego kwasu mrówkowego. Wyniki analizy ekstraktów acetonowych z liści głogu są wyższe w porównaniu z wartościami przedstawionymi w publikacjach innych autorów. Barros i wsp. [2] w etanolowym ekstrakcie z liści głogu (*C. oxyacantha*) określili całkowitą zawartość polifenoli na poziomie 16,70 mg GAE/g s.m. Z kolei Ozyurek i wsp. [14] w metanolowych ekstraktach z liści głogu wykazali potencjał przeciwutleniający [mmol TE/g s.m.] metodami: CUPRAC – 0,37, FRAP – 0,14, a ABTS^{•+} – 0,33. Spośród analizowanych w niniejszej pracy rozpuszczalników najmniej korzystnym ekstrahentem liści głogu okazał się 50-procentowy wodny roztwór metanolu. W stosunku do przywołanych powyżej wartości ekstrakt otrzymany przez 2 h z działaniem ultradźwięków charakteryzował się o 47 % mniejszą wartością potencjału oznaczonego metodą CUPRAC, zaś w wyciągu z liści ekstrahowanych przez 24 h stwierdzono potencjał oznaczony metodą FRAP mniejszy o 49 % i o 40 % mniejszą całkowitą zawartość polifenoli.

Po przeanalizowaniu poszczególnych części anatomicznych krzewu głogu można stwierdzić, że najwyższym potencjałem przeciwutleniającym charakteryzowały się ekstrakty uzyskane z kwiatów przy zastosowaniu 70-procentowego wodno-acetonowego roztworu zakwaszonego dodatkiem 1-procentowego kwasu mrówkowego, oznaczanym metodami: ABTS, FRAP, CUPRAC oraz testem mocy redukującej. Uzyskanie najwyższych wartości wynikało prawdopodobnie z optymalnych warunków do separacji barwników antocyjanowych, wykazujących wysokie działanie przeciwutleniające. Antocyjany zachowują stabilność w roztworach zasadowych i obojętnych, dlatego podczas ich ekstrakcji stosuje się wyłącznie roztwory zakwaszone. W ocenie otrzymanych wyciągów z kwiatów głogu wykazano również najsilniejsze, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) korelacje pomiędzy metodą ABTS^{•+} a metodami: DPPH (r = 0,87), CUPRAC (r = 0,95), FRAP (r = 0,91), AAE (r = 0,88), TPC (r = 0,92) oraz TFC (r = 0,82), co potwierdziło, że zarówno duża zawartość polifenoli, jak i flawonoidów,

wpływała na wysoki potencjał przeciwutleniający otrzymanych wyciągów. Tak silne i istotne korelacje wykazano również w odniesieniu do wyciągów otrzymanych z owoców i liści głogu, niezależnie od warunków ekstrakcji.

Wnioski

1. Najbardziej efektywnym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji substancji o właściwościach przeciwutleniających z kwiatów, liści i owoców głogu jest 50-procentowy i 70-procentowy wodny roztwór acetonu.
2. Wydłużenie czasu ekstrakcji (z 2 do 24 h) oraz zastosowanie ultradźwięków zwiększyło efektywność ekstrakcji substancji o potencjale przeciwutleniającym z kwiatów, liści i owoców głogu.
3. Ekstrakty uzyskane z kwiatów głogu charakteryzują się znacznie wyższym potencjałem przeciwutleniającym niż ekstrakty z liści i owoców.

Literatura

- [1] Bahari-Sahloul R., Ammar S., Fredj R.B., Saguem S., Grec S., Trotin F., Skhiri F.H.: Polyphenol contents and antioxidant activities of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus* L. Varieties. Pak. J. Biol. Sci., 2009, 12 (9), 660-668.
- [2] Barros L., Carvalho A., Ferreira I.: Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. Phytochem. Anal., 2011, 22, 181-188.
- [3] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Anal. Biochem., 1996, 239, 70-76.
- [4] Dai J., Mumper R.J.: Plant phenolics: Extractions, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 2010, 15, 7313-7352.
- [5] Daniele C., Mazzanti G., Pittler M., Ernst E.: Adverse-event profile of *Crataegus* spp.: A systematic review. Drug Safety, 2006, 29 (6), 523-535.
- [6] Ebrahimzadeh M., Bahramian F.: Antioxidant activity of *Crataegus pentaegyna* subsp. *elburensis* fruits extracts used in traditional medicine in Iran. Pakistan J. Biol. Sci., 2009, 12 (5), 313-419.
- [7] Edwards E., Brown P., Talent N., Dickinson T., Shipley P.: Review of the chemistry of the genus *Crataegus*. Phytochemistry, 2012, 79, 5-26.
- [8] Gouveia S., Castilho P.C.: Antioxidant potential of *Artemisia argentea* L'Her alcoholic extracts and its relations with the phenolic composition. Food Res. Int., 2011, 44, 1620-1631.
- [9] Kirakosyan A., Seymour E., Kaufman P., Warber S., Bolling S., Chang S.: Antioxidant capacity of polyphenolic extracts from leaves of *Crataegus laevigata* and *Crataegus monogyna* (hawthorn) subjected to drought and cold stress. J. Agric. Food Chem., 2003, 51, 3973-3976.
- [10] Kumar D., Arya V., Bhat Z. A.: The genus *Crataegus*: Chemical and pharmacological perspectives. Rev. Bras. Farmacogn., 2012, 22 (5), 1-14.
- [11] Liu T., Cao Y., Zhao M.: Extraction optimization, purification and antioxidant activity of procyanidins from hawthorn (*C. pinnatifida* Bge. var. *major*) fruits. Food Chem., 2010, 119, 1656-1662.
- [12] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L.: Polyphenols: Food sources and bioavailability. Am. J. Clin. Nutr., 2004, 79, 727-747.
- [13] Oyaizu M.: Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr., 1986, 44, 307-315.

- [14] Ozyurek M., Bener M., Guclu K., Donmez A., Suzgec-Selcuk S., Pirildar S., Mericli A., Apak R.: Evaluation of antioxidant activity of *Crataegus* species collected from different regions of Turkey. *Rec. Nat. Prod.*, 2012, 6(3), 263-277.
- [15] Ozyurek M., Guclu K., Tutem E., Baskan K., Ercag E., Celik E., Baki S., Yildiz L., Karaman S., Apak R.: A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Anal. Meth.*, 2011, 3, 2439-2453.
- [16] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, 1231-1237.
- [17] Shahat A., Cos P., Bruyne T., Apers S., Hammouda F., Ismail S., Azzam S., Claeys M., Goovaerts E., Pieters L., Berghe D., Vlietinck A.: Antiviral and antioxidant activity of flavonoids and proanthocyanidins from *Crataegus sinaica*. *Letter, Planta Med.*, 2002, 68, 539-541.
- [18] Tadic V., Dobric S., Markovic G., Dorevic S., Arsic I., Menkovic N., Stevic T.: Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56, 7700-7709.
- [19] Wang J., Xiong X., Feng B.: Effect of *Crataegus* usage in cardiovascular disease prevention: An evidence-based approach. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2013, #149363.
- [20] Xianggun G., Ohlander M., Jeppson N., Bjork L.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn during maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 1485-1490.
- [21] Yang B., Liu P.: Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. *J. Sci. Food Agric.*, 2012, 92 (8), 1578-1590.
- [22] Yen G.C., Chen H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43, 27-32.
- [23] Zhang Q., Lin L., Ye W.: Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chin. Med.*, 2018, 20, 1-26.

IMPACT OF EXTRACTION CONDITIONS ON ANTIOXIDANT POTENTIAL OF EXTRACTS OF FLOWERS, LEAVES AND FRUITS OF HAWTHORN (*CRATAEGUS* × *MACROCARPA* L.)

S u m m a r y

Hawthorn is among the plants with a high content of biologically active compounds; their concentration in a ready-to-use extract depends, among other things, on the extraction parameters used. The objective of the research study was to optimise the extraction conditions (temperature, time duration and concentration of solvents) in order to provide the highest possible antioxidant potential of preparations produced from lyophilised anatomic parts of hawthorn (*Crataegus* × *macrocarpa* L.), i.e. from its flowers, leaves and fruits. The extraction was carried out at a temperature of 20 ± 2 °C with the use of three solvents, each one of two concentrations, during 2- and 24-hour periods. The efficiency of ultrasound-assisted extraction was also compared. The antioxidant potential was determined using ABTS^{•+}, DPPH[•], FRAP and CUPRAC methods and a reducing power test. Additionally, the content of polyphenols and flavonoids was determined.

For the purpose of getting extracts from hawthorn flowers, the most effective method was the 24-hour extraction with 70 % acetone and 1 % formic acid added. Those extracts were characterised by the highest value of ABTS^{•+}, CUPRAC and FRAP antioxidant potential. Then, as regards the extracts from hawthorn fruit and leaves, the highest antioxidant potential was found after the 24-hour extraction supported by double sonication. The highest values of the potential under determination were obtained in extracts from hawthorn fruit extracted with 50 % acetone when using the ABTS^{•+} and CUPRAC methods. As for the

extracts from hawthorn leaves, the highest values of the antioxidant potential were determined using the DPPH[•] and CUPRAC methods, and the reducing power test. As regards the antioxidant potential, the most effective solvent to extract hawthorn lyophilisates was 70 % acetone-water solution assisted by an ultrasound or 1 % formic acid.

Key words: hawthorn, extraction, antioxidant potential, flavonoids, total polyphenols ☒

GRZEGORZ SUWAŁA

IDENTYFIKACJA FAŁSZOWANIA FRAKCJI TŁUSZCZOWEJ WYBRANYCH CZEKOLAD

Streszczenie

Oszustwa w branży spożywczej nie są zjawiskiem nowym, jednak w opracowaniach z ostatnich lat podkreśla się skalę tego problemu i towarzyszące mu straty gospodarcze. Według danych z 2018 roku oszustwa na rynku żywności w skali świata szacuje się na ok. 129 mld złotych.

Czekolada należy do grupy wyrobów kakaowych i czekoladowych. Z uwagi na rodzaj surowca, z jakiego jest wytwarzana, musi spełniać wymagania określone w odpowiednich przepisach. Określono w nich m.in., pod jakimi warunkami prawodawca dopuszcza dodanie do omawianych produktów tłuszczu roślinnego innego niż kakaowy.

Celem pracy była identyfikacja zafałszowań czekolad z dodatkiem zamiennika tłuszczu kakaowego na podstawie udziału kwasów tłuszczowych oraz ocena wartości wskaźnika proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego. Materiał doświadczalny stanowiło osiem czekolad różnych marek, zapakowanych w opakowania jednostkowe o masie netto 100 g, zakupionych w handlu detalicznym, pochodzących z różnych partii produkcyjnych, nabywanych w interwale rocznym w latach 2014 - 2018. Łącznie w podanym okresie przebadano 40 czekolad. Stwierdzono, że zróżnicowana jakość dostępnego na rynku tłuszczu kakaowego decyduje o jakości wytworzonych z użyciem tego surowca produktów. Zidentyfikowano dużą zmienność udziału zafałszowanych produktów w okresie realizacji badań. Wskazano istotne różnice wartości proporcji kwasów tłuszczowych – stearynowego do palmitynowego pomiędzy analizowanymi próbkami czekolad, a także ustalono, że wysokiej jakości tłuszcz kakaowy pozwala na uzyskanie odpowiednio wysokiego wskaźnika proporcji nawet z dodatkiem tańszego zamiennika tłuszczu kakaowego.

Słowa kluczowe: czekolada, autentyczność, jakość, tłuszcz kakaowy, zamienniki tłuszczu kakaowego

Wprowadzenie

Definiowanie fałszowania żywności stanowi przedmiot wielu dokumentów. Zarówno w krajowej, jak i w światowej literaturze przedmiotu znajduje się wiele definicji o zróżnicowanym stopniu złożoności. Do bardzo syntetycznych zaliczyć można defini-

cję podaną przez Polską Federację Producentów Żywności, która fałszowaniem określiła „stosowanie dodatków do żywności niezgodnie z przepisami” [6]. Przykładem rozbudowanej, o dużym stopniu uszczegółowienia zakresu działań uznanych za fałszowanie jest definicja zawarta w *Ustawie o bezpieczeństwie zdrowotnym żywności i żywienia* [26], czy w nowelizacji *Ustawy o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych* z roku 2008 [25]. W dokumentach wspólnotowych najczęściej powoływana jest definicja, której autorami są Spink i Moyer [21], określająca oszustwo w branży spożywczej jako: „termin złożony, który obejmuje zamierzone i umyślne zastąpienie, dodanie, manipulowanie lub wprowadzenie w błąd odnośnie do żywności, składników żywności lub opakowania żywności lub fałszywe, lub wprowadzające w błąd oświadczenia na temat produktu służące uzyskaniu korzyści gospodarczej”. Tym samym do najważniejszych elementów oszustwa w branży spożywczej należą: niezgodność z prawem żywnościowym lub wprowadzanie w błąd konsumenta, umyślność oraz chęć uzyskania korzyści finansowej [4]. Według danych z 2018 roku oszustwa na rynku żywności w skali świata szacuje się na ok. 30 mld euro (czyli ok. 129 mld złotych) [23].

Jednym z produktów, który może być fałszowany, jest czekolada. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 2002 roku [19] w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej wyrobów kakaowych i czekoladowych: „czekolada jest produktem otrzymanym z wyrobów kakaowych i cukrów, zawierającym nie mniej niż 35 % suchej masy kakaowej, w tym: nie mniej niż 18 % tłuszczu kakaowego oraz nie mniej niż 14 % beztłuszczowej suchej masy kakaowej”. Prawodawca dopuścił również pod pewnymi warunkami dodawanie do omawianych produktów tłuszczu roślinnego innego niż kakaowy. Zabieg ten nie może jednak zmniejszyć minimalnej zawartości tłuszczu kakaowego i minimalnej zawartości suchej masy kakaowej w wyrobie, a także nie może wynosić więcej niż 5 % całkowitej masy produktu końcowego pomniejszonej o masę dodanych składników. Dodatek takiego tłuszczu skutkuje koniecznością rozszerzenia informacji przekazywanych konsumentom. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2014 r. [20] w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych (§ 11 punkt 5) w oznakowaniu wyrobów czekoladowych, określonych w przepisach w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej wyrobów kakaowych i czekoladowych, w których został użyty jako składnik czekolady tłuszcz roślinny inny niż tłuszcz kakaowy podaje się dodatkowo informację o tym, że wyrób „oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne”. Jednocześnie zgodnie z punktem 6. tego paragrafu informację, o której mowa w ust. 5., umieszcza się w pobliżu nazwy wyrobu czekoladowego, w tym samym polu widzenia co wykaz składników, w sposób wyraźnie oddzielony od wykazu składników i przy użyciu pogrubionej czcionki o przynajmniej takiej samej wielkości jak czcionka użyta w wykazie składników.

W celu uznania czekolad za wolne od zafałszowań, w aspekcie niewypełnienia wymagań w zakresie ewentualnej domieszki tłuszczów roślinnych innych niż tłuszcz kakaowy, przeprowadza się analizę profilu kwasów tłuszczowych. Kluczowym jej kryterium jest udział podstawowych kwasów tłuszczowych w maśle kakaowym, a w dalszej kolejności proporcja kwasu stearynowego do palmitynowego. W tłuszczu kakaowym zawartość kwasu palmitynowego wynosi ok. 26 %, a kwasu stearynowego – ok. 34 % [7], a zatem wartość wspomnianej proporcji wynosi ok. 1,31. Dla zamienników tłuszczu kakaowego proporcja jest odwrotna, a w przypadku samego oleju palmowego wynosi ok. 0,1 [8, 10, 13]. Powyższe informacje pozwalają na określenie proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego, przy 5-procentowym dodatku oleju palmowego jako zamiennika tłuszczu kakaowego, na poziomie ok. 1,21. Przyjęcie takiego progu w ocenie identyfikacji zafałszowań czekolad ponadnormatywnym dodatkiem oleju palmowego mogłoby się okazać krzywdzące dla producentów deklarujących taki dodatek, gdyż jak podają Jahurul i wsp. [5] oraz Naik i wsp. [12], zawartość przedmiotowych kwasów tłuszczowych w maśle kakaowym jest zróżnicowana w zależności od jego pochodzenia i waha się w przedziale istotnym dla analizy autentyczności czekolad.

Tabela 1. Zawartość podstawowych kwasów tłuszczowych w tłuszczu kakaowym izolowanym z ziarna kakaowego z różnych rejonów świata

Table 1. Content of major fatty acids in natural cocoa butter isolated from cocoa beans from different world regions

Kraj Country	Kwasy tłuszczowe / Fatty acids							
	palmitynowy palmitic acid C16:0		stearynowy stearic acid C18:0		oleinowy oleic acid C18:1		linolowy linoleic acid C18:2	
	min.	max.	min.	max.	min.	max.	min.	max.
Wybrzeże Kości Słoniowej Ivory Coast	25,80	26,60	36,90	36,90	32,90	33,00	2,60	2,80
Ghana	25,30	25,46	36,69	37,60	32,70	32,99	2,51	2,80
Indonezja / Indonesia	24,10	25,13	36,88	37,30	33,06	34,30	2,50	2,70
Brazylia / Brazil	25,10	27,90	33,30	33,80	34,50	36,50	3,50	3,60
Ekwador / Ecuador	25,20	25,60	34,62	36,00	34,60	34,91	2,60	3,04
Malezja / Malaysia	24,90	26,00	36,00	37,40	33,50	34,00	2,60	3,00

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie [5] / the authors' own study based on [5]

Maksymalna spotykana zawartość kwasu stearynowego w tłuszczu kakaowym występuje w surowcu pochodzącym z Ghany i wynosi 37,6 %, natomiast najmniejsza spotykana zawartość kwasu palmitynowego – 24,1 % w surowcu pochodzącym z Indonezji. Najmniejszą zawartość kwasu stearynowego (33,3 %) odnotowano w tłuszczu

kakaowym pochodzącym z Brazylii, czemu towarzyszy również największa zawartość kwasu palmitynowego (27,9 %) – tab. 1. Wartości te posłużą w części doświadczalnej do wyliczenia możliwych do uzyskania wartości proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego w sytuacji stosowania surowców z poszczególnych krajów.

Celem niniejszej pracy była identyfikacja zafałszowań czekolad z dodatkiem zamiennika tłuszczu kakaowego na podstawie udziału kwasów tłuszczowych oraz ocena wartości wskaźnika proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego.

Material i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło 8 czekolad różnych marek, zapakowanych w opakowania jednostkowe o masie netto 100 g, zakupionych w handlu detalicznym, pochodzących z różnych partii produkcyjnych, nabywanych w interwale rocznym, w latach 2014 - 2018. W podanym okresie przebadano łącznie 40 próbek. W pierwszych dwóch latach badań na opakowaniu 4 marek znajdowała się informacja o dodatku do ich produkcji tłuszczów roślinnych. W kolejnych latach jedynie dwóch producentów deklarowało wykorzystanie tłuszczu roślinnego w swoich produktach. Próbkę zakodowano oznaczeniami: CG1, CG2, CG3, CG4, CG5, CG6, CG7, CG8. W przypadku próbek, które w danym roku były opatrzone deklaracją obecności tłuszczu roślinnego w składzie, użyto symbolu „*” do oznaczenia wyniku. Skład analizowanych czekolad według deklaracji producentów zestawiono w tab. 2.

Tabela 2. Deklarowany przez producentów skład analizowanych czekolad

Table 2. Composition of tested chocolates as declared by manufacturers

Kod Code	Deklarowany skład czekolad / Declared composition of chocolates
Lata / Years: 2014, 2015	
CG1	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu, tłuszcz kakaowy, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 64 %. Tłuszcz 31,8 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa, cocoa butter, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 64 %. Fat 31.8 g/100 g
CG2	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, tłuszcz roślinny, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 45 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 29,6 g/100 g sugar, cocoa paste, cocoa butter, vegetable fat, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 45 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 29.6 g/100 g
CG3	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu, tłuszcz kakaowy, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 70 %. Tłuszcz 38,5 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa, cocoa butter, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 70 %. Fat 38.5 g/100 g
CG4	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu, tłuszcz kakaowy, serwatka słodka w proszku, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 65 %. Tłuszcz 35 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa, cocoa butter, sweet whey powder, emulsifier, flavour. Cocoa mass min. 65 %. Fat 35 g/100 g

CG5	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz roślinny, tłuszcz mleczny, emulgatory, aromat. Masa kakaowa min. 46 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 31,5 g/100 g / sugar, cocoa paste, vegetable fat, milk fat, emulsifiers, flavour. Cocoa solids min. 46 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 31.5 g/100 g
CG6	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu (11,7 %), tłuszcz kakaowy, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 60 %. Tłuszcz 32,2 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa (11,7 %), cocoa butter, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 60 %. Fat 32.2 g/100 g
CG7	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, tłuszcz roślinny, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 45 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 29,2 g/100 g sugar, cocoa paste, cocoa butter, vegetable fat, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 45 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 29.2 g/100 g.
CG8	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, tłuszcz roślinny, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 43 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 29,9 g/100 g sugar, cocoa paste, cocoa butter, vegetable fat, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 43 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 29.9 g/100 g
Lata / Years: 2016 - 2018	
CG1	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu, tłuszcz kakaowy, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 64 %. Tłuszcz 31,8 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa, cocoa butter, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 64 %. Fat 31.8 g/100 g
CG2	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz roślinny, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 45 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 29,6 g/100 g sugar, cocoa paste, vegetable fat, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 45 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 29.6 g/100 g
CG3	miazga kakaowa, cukier, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu, tłuszcz kakaowy, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 70 %. Tłuszcz 38,5 g/100 g cocoa paste, sugar, reduced fat cocoa, cocoa butter, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 70 %. Fat 38.5 g/100 g
CG4	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, tłuszcz mleczny, emulgator – lecytyny z soi, naturalny aromat waniliowy. Masa kakaowa min. 60 %. Tłuszcz 31 g/100 g sugar, cocoa paste, cocoa butter, milk fat, emulsifier – soybean lecithin, natural vanilla flavour. Cocoa solids min. 60 %. Fat 31 g/100 g
CG5	miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, tłuszcz mleczny, emulgatory (lecytyna sojowa, E 476), aromat, odtłuszczone mleko w proszku. Masa kakaowa min. 43 %. Tłuszcz 31,5 g/100 g cocoa mass, cocoa butter, milk fat, emulsifiers (soy lecithin, E 476), flavour, skimmed milk powder. Cocoa solids min. 43 %. Fat 31.5 g/100 g
CG6	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz kakaowy, emulgator – lecytyna słonecznikowa, naturalny aromat waniliowy. Masa kakaowa min. 65 %. Tłuszcz 31,8 g/100 g sugar, cocoa paste, cocoa butter, emulsifier – sunflower lecithin, natural vanilla flavour. Cocoa solids min. 65 %. Fat 31.8 g/100 g
CG7	cukier, miazga kakaowa, tłuszcz roślinny, emulgator, aromat. Masa kakaowa min. 45 %. Oprócz tłuszczu kakaowego zawiera tłuszcze roślinne. Tłuszcz 29,2 g/100 g sugar, cocoa paste, vegetable fat, emulsifier, flavour. Cocoa solids min. 45 %. In addition to cocoa butter, it contains vegetable fats. Fat 29.2 g/100 g
CG8	miazga kakaowa, cukier, tłuszcz kakaowy, emulgator: lecytyny z soi, aromat. Masa kakaowa min. 85 %. Tłuszcz 52,0 g/100 g / cocoa paste, sugar, cocoa butter, emulsifier: soybean lecithins, flavour. Cocoa solids min. 85 %. Fat 52.0 g/100 g

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

Z badanych próbek czekolad ekstrahowano frakcję tłuszczową według metody AOAC 963.15 [14] przy użyciu automatycznego ekstraktora Soxhlet Büchi model B-811 (Flawil, Switzerland). Kwasy tłuszczowe analizowano w postaci estrów metylowych uzyskanych z próbek w sposób opisany w normie PN-EN ISO 12966-2:2017-05 [18] – metoda z zastosowaniem trifluorku boru (BF_3). Analizę wykonywano zgodnie z PN-EN ISO 12966-1:2015-01 [17] przy użyciu chromatografu gazowego SRI 8610C (Torrance, CA, USA) z kolumną Agilent Technologies HP-88 105 m \times 0,25 mm \times 0,2 μm , z detektorem FID z zastosowaniem wodoru jako gazu nośnego. Ciśnienie wodoru na wlocie kolumny utrzymywano na poziomie 3,8 bara, aby gaz nośny przepływał z prędkością liniową 30 m/min. Analizy prowadzono w programie temperaturowym, rozpoczynając od ogrzewania kolumny w temp. 80 °C, a następnie wzrostu o 4 °C/min do osiągnięcia 170 °C. Następnie temperaturę zwiększano z prędkością 2,5 °C/min do osiągnięcia temp. 240 °C. Czas analizy próbki wynosił 55 min. Jako wzorzec zastosowano Food Industry FAME Mix (nr kat. 35077) dla przemysłu spożywczego firmy Restek (Bellefonte, PA, USA), będący mieszaniną 37 estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Kolejność elucji składników przyjęto za Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters [3].

Średnie wyniki zawartości wybranych kwasów tłuszczowych poddano weryfikacji w kierunku określenia istotności różnic w poszczególnych seriach. Przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA), a następnie testy post-hoc HSD Tukeya ($p < 0,001$). Analizę przeprowadzono w programie R 4.0.0.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki analizy chromatograficznej oceniono pod względem ilości podstawowych kwasów tłuszczowych obecnych w tłuszczu kakaowym (tab. 3). Zawartość kwasu palmitynowego wahała się w przedziale od 23,28 % w próbce CG6 z V serii badań do 37,73 % w próbce CG7 z III serii badań. Oba wyniki nieznacznie wykraczają poza wartości graniczne, charakterystyczne dla tłuszczu kakaowego, nie są jednak niespotykane. Równie małą zawartość kwasu palmitynowego w tłuszczu kakaowym odnotowali Pawłowicz i Bukała [15], natomiast Parret i wsp. [16] w jednej z analizowanych próbek czekolad wykazali zawartość C16:0 na poziomie 14,7 %. Znacznie większą zawartość kwasu palmitynowego (47,70 %) od progowej próbki CG7 stwierdzili w czekoladach Aftab i wsp. [1].

Zawartość kwasu stearynowego w analizowanych czekoladach wahała się od 28,00 % w próbce CG6 z V serii badań do 36,76 % w próbce CG4 z drugiej serii badań. Charakterystyczna dla tłuszczu kakaowego zawartość C18:0 podawana w literaturze wynosi 33,30 ÷ 40,20 % [2, 12, 15]. Pomimo tego, że oznaczona w eksperymencie dolna wartość progowa była znacznie poniżej zawartości charakterystycznej dla tłuszczu kakaowego, to podobne wyniki odnotowali Perret i wsp. [16]. W badaniach wy-

mienionych autorów najmniejsza zawartość kwasu stearynowego w czekoladach wyniosła 16,30 %, a średnia zawartość C18:0 kształtowała się na poziomie 29,09 %. Należy jednak nadmienić, że duży przedział zawartości tego kwasu jest typowy dla wykorzystywanych do produkcji czekolad zamienników tłuszczu kakaowego (CBE). Z kolei Aftab i wsp. [1] wykazali zawartość kwasu stearynowego w tłuszczu wyizolowanym z czekolad w przedziale 17,87 ÷ 30,41 %.

Tabela 3. Zawartość podstawowych kwasów tłuszczowych w tłuszczu kakaowym izolowanym z badanych czekolad

Table 3. Content of major fatty acids in natural cocoa butter isolated from tested chocolates

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Czekolady / Chocolates							
	CG1	CG2	CG3	CG4	CG5	CG6	CG7	CG8
I (2014)								
C16	29,05 ^e	30,85 ^d	28,68 ^f	29,29 ^e	33,87 ^a	30,83 ^d	32,90 ^b	31,55 ^c
SD	0,07	0,12	0,10	0,14	0,28	0,13	0,25	0,04
C18	35,04 ^a	33,90 ^c	34,63 ^b	34,95 ^a	31,09 ^e	32,79 ^d	30,29 ^e	33,24 ^d
SD	0,06	0,1	0,03	0,12	0,4	0,28	0,35	0,2
C18:1	31,87 ^{bcdf}	31,39 ^{fgh}	32,04 ^{abcdf}	31,75 ^{def}	31,07 ^{gh}	32,13 ^{abd}	31,84 ^{abcdef}	31,65 ^{bcdefg}
SD	0,03	0,08	0,17	0,02	0,3	0,11	0,2	0,19
C18:2	3,09 ^{dgh}	3,09 ^{bcdefgh}	3,72 ^a	3,21 ^{bdeg}	3,23 ^{bcdefg}	3,29 ^{bcdeg}	3,34 ^{bcdeg}	2,96 ^{fgh}
SD	0,07	0,14	0,08	0,02	0,06	0,04	0,1	0,08
II (2015)								
C16	28,73 ^d	28,16 ^e	28,29 ^e	29,34 ^c	29,95 ^b	28,37 ^e	31,12 ^a	27,39 ^f
SD	0,08	0,11	0,09	0,15	0,26	0,12	0,24	0,05
C18	34,74 ^d	35,79 ^c	36,01 ^b	36,76 ^a	33,02 ^{efg}	35,02 ^d	32,45 ^{fg}	33,27 ^{ef}
SD	0,09	0,09	0,05	0,14	0,38	0,27	0,33	0,03
C18:1	32,82 ^{bc}	29,93 ^f	26,13 ^g	32,60 ^{cd}	33,86 ^a	32,07 ^e	32,82 ^{bcd}	32,82 ^{bcd}
SD	0,04	0,07	0,16	0,04	0,29	0,12	0,19	0,17
C18:2	3,62 ^b	4,13 ^a	4,07 ^a	3,47 ^c	3,18 ^d	3,71 ^b	3,76 ^b	3,34 ^d
SD	0,06	0,12	0,1	0,03	0,08	0,06	0,11	0,07
III (2016)								
C16	28,99 ^c	29,75 ^b	28,41 ^{de}	28,94 ^c	27,89 ^{efg}	28,38 ^{deg}	37,73 ^a	28,02 ^{fg}
SD	0,06	0,13	0,11	0,13	0,29	0,14	0,26	0,08
C18	36,06 ^a	34,35 ^d	35,43 ^c	35,25 ^c	35,01 ^c	35,21 ^c	30,04 ^e	35,74 ^b
SD	0,05	0,1	0,08	0,11	0,36	0,3	0,36	0,05
C18:1	31,98 ^f	32,59 ^{bcd}	32,93 ^{ab}	32,29 ^{de}	32,88 ^{abcd}	33,18 ^{ab}	28,97 ^g	32,41 ^{bcde}
SD	0,02	0,05	0,19	0,05	0,27	0,14	0,22	0,21
C18:2	2,96 ^e	3,31 ^{bcd}	3,24 ^{cd}	3,51 ^{bd}	3,32 ^{cd}	3,29 ^{cd}	3,26 ^{cd}	4,43 ^a
SD	0,08	0,13	0,06	0,06	0,04	0,03	0,13	0,1

IV (2017)								
C16	26,19 ^e	29,97 ^c	24,95 ^g	30,74 ^b	28,68 ^d	25,56 ^f	29,20 ^d	32,11 ^a
SD	0,08	0,12	0,10	0,13	0,26	0,14	0,21	0,04
C18	34,21 ^{bc}	34,01 ^{bc}	35,06 ^{ab}	33,29 ^d	34,63 ^{abc}	30,08 ^f	33,87 ^{bc}	30,59 ^e
SD	0,11	0,08	0,04	0,12	0,4	0,28	0,31	0,03
C18:1	32,40 ^a	30,68 ^{cd}	32,25 ^a	30,81 ^{bd}	31,99 ^a	27,00 ^f	30,64 ^{bcd}	30,29 ^{de}
SD	0,04	0,06	0,14	0,02	0,31	0,1	0,18	0,2
C18:2	4,32 ^a	3,22 ^{cde}	2,87 ^{cef}	3,27 ^{bdef}	3,72 ^{bc}	2,44 ^g	3,66 ^{bc}	3,04 ^{cdef}
SD	0,07	0,16	0,12	0,4	0,1	0,04	0,14	0,08
V (2018)								
C16	26,02 ^{cd}	26,92 ^a	25,12 ^e	26,32 ^{bd}	22,98 ^g	23,28 ^g	25,96 ^{bcd}	24,87 ^f
SD	0,06	0,14	0,08	0,11	0,28	0,16	0,22	0,05
C18	31,76 ^d	31,12 ^e	36,22 ^a	31,50 ^d	33,53 ^c	28,00 ^g	30,07 ^f	34,85 ^b
SD	0,09	0,09	0,05	0,14	0,38	0,27	0,33	0,03
C18:1	27,26 ^e	32,04 ^a	32,03 ^a	29,63 ^c	28,98 ^d	23,54 ^f	27,01 ^e	30,27 ^b
SD	0,04	0,07	0,16	0,04	0,29	0,12	0,19	0,17
C18:2	2,94 ^{ef}	3,66 ^a	2,74 ^g	3,25 ^{bc}	3,09 ^{cdef}	3,18 ^{bcd}	2,44 ^h	3,11 ^{cde}
SD	0,06	0,12	0,1	0,03	0,08	0,06	0,11	0,07

Objaśnienie / Explanatory note:

W tabeli przedstawiono wartości średnie i odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; a - h – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,001$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,001$).

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

Zawartość kwasu oleinowego w analizowanych próbkach wynosiła od 23,54 % w próbce CG6 z VI serii badań do 33,86 % w próbce CG5 z II serii badań. Jak podają Naik i Kumar [12] oraz Torres-Moreno i wsp. [24], zawartość C18:1 w tłuszczu kakaowym waha się w przedziale 26,30 ÷ 35,20 %, a równie dużą zawartość tego kwasu tłuszczowego w czekoladach uzyskali de Melo i wsp. [11]. Wartości znacznie poniżej dolnego progu wykazali Aftab i wsp. [1] oraz Perret i wsp. [16]. Należy nadmienić, że większość zamienników tłuszczu kakaowego stosowanych w przetwórstwie charakteryzuje się większą zawartością kwasu oleinowego. Wyjątek stanowi olej z nasion palmy (ang. *palm kernel oil*), w którym zawartość wszystkich omawianych powyżej kwasów tłuszczowych jest znacznie mniejsza niż w tłuszczu kakaowym [10].

Zawartość kwasu linolowego w tłuszczu wyizolowanym z badanych czekolad wynosiła od 2,44 % w próbkach CG6 z IV serii badań i CG7 z V serii badań do 4,43 % w próbkach CG8 z III serii badań. Naik i Kumar [12] podają, że zawartość C18:2 charakterystyczna dla tłuszczu kakaowego kształtuje się w zakresie 1,70 ÷ 3,60 %, a Aftab i wsp. [1] oraz Torres-Moreno i wsp. [24] uważają, że w czekoladach jest mniej kwasu linolowego – 1,62 ÷ 3,41 %. Zawartością kwasu linolowego powyżej górnej wartości

progowej odnoszącej się do tłuszczu kakaowego charakteryzują się jego zamienniki, takie jak np. masło Shea [12], co może stanowić przyczynę wykrycia większych ilości C18:2 w analizowanych próbkach czekolad.

Badane czekolady różniły się statystycznie istotnie od siebie pod względem profilu oznaczonych kwasów tłuszczowych ($p < 0,001$).

Z uwagi na istotne wahania zawartości kwasów stearynowego i palmitynowego, wykorzystywanych do wyliczenia proporcji służącej do interpretacji potencjalnego zafałszowania czekolad, uznano za zasadne wyznaczenie możliwego zakresu wartości wskaźnika proporcji, określającego stosunek kwasu stearynowego do palmitynowego (tab. 4).

Tabela 4. Proporcja kwasu stearynowego do palmitynowego w tłuszczu kakaowym izolowanym z ziarna kakaowego z różnych rejonów świata

Table 4. Stearic-to-palmitic acids ration in natural cocoa butter isolated from cocoa beans from different world regions

Kraj / Country	Proporcja / Ratio: C18/C16		
	min.	max.	\bar{X}
Wybrzeże Kości Słoniowej / Ivory Coast	1,43	1,39	1,41
Ghana	1,45	1,48	1,46
Indonezja / Indonesia	1,53	1,48	1,51
Brazylia / Brazil	1,33	1,21	1,27
Ekwador / Ecuador	1,37	1,41	1,39
Malezja / Malaysia	1,45	1,44	1,44

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie [5] / the authors' own study based on [5]

Najwyższa możliwa do uzyskania wartość proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego dotyczy tłuszczu kakaowego pochodzącego z Indonezji – 1,53, natomiast najniższa odnosi się do tłuszczu kakaowego pochodzącego z Brazylii – 1,21 (tab. 1).

Jak podaje Ławrowski [9], przyjmuje się, że typowa wartość proporcji zawartości kwasów stearynowego do palmitynowego wynosi $1,35 \div 1,38$, co oznacza, że 5-procentowy dodatek oleju palmowego, jako zamiennika tłuszczu kakaowego (CBR – *cocoa butter replacer*), spowodowałby zmniejszenie tej wartości do poziomu ok. 1,21. Przyjmując zatem wartości średnie z danych literaturowych jako odniesienie do analizy autentyczności, można byłoby uznać czekoladę wytworzoną na bazie surowca pochodzącego z Brazylii bez dodatku tłuszczu innego niż kakaowy za produkt zafałszowany o niezadeklarowanej domieszce wspomnianego zamiennika, co byłoby krzywdzące dla producenta.

W związku z powyższym analizie poddano wartości proporcji kwasu stearynowego do palmitynowego z uwzględnieniem minimalnego progu wartości charakterystycz-

nej dla tłuszczu kakaowego, jak również deklaracji zamieszczonej na opakowaniu, dotyczącej obecności w produkcie tłuszczu roślinnego innego niż kakaowy, z uwzględnieniem jego wpływu na przedmiotową proporcję (tab. 5).

W pierwszej serii badań (2014) 6 spośród 8 próbek charakteryzowało się proporcją niższą od progu 1,21, a więc najniższej wartości tłuszczu kakaowego pochodzącego z Brazylii. Wśród tych próbek znalazły się 4 produkty z deklaracją użycia w produkcji tłuszczu roślinnego. Jeżeli przyjmie się, że producenci mogli bazować na surowcu pochodzącym z Brazylii, użycie oleju palmowego jako tańszego zamiennika tłuszczu kakaowego w dozwolonej ilości 5 % mogłoby spowodować obniżenie współczynnika proporcji do wartości 1,13. W żadnym z produktów z deklaracją proporcja ta nie została jednak osiągnięta. Zatem z 8 analizowanych próbek wymagań nie spełniły 4 produkty z deklaracją dodatku tłuszczu roślinnego (CG2, CG5, CG7, CG8), co dowodzi ponadnormatywnego jego dodatku, a także 2 produkty bez deklaracji (CG4, CG6), co z kolei świadczy o niedeklarowanym dodatku tłuszczu innego niż kakaowy. Łącznie próbki te stanowią 75 % wszystkich czekolad poddanych analizie w pierwszej serii badań.

Tabela 5. Proporcja kwasu stearynowego do palmitynowego w badanych czekoladach

Table 5. Stearic-to-palmitic acids ratio in tested chocolates

Seria badań Research series	Proporcja / Ratio: C18/C16							
	CG1	CG2	CG3	CG4	CG5	CG6	CG7	CG8
I (2014)	1,21	1,10*	1,21	1,19	0,92*	1,06	0,92*	1,05*
II (2015)	1,21	1,27*	1,27	1,25	1,10*	1,23	1,04*	1,21*
III (2016)	1,24	1,15*	1,25	1,22	1,26	1,24	0,80*	1,28
IV (2017)	1,31	1,13*	1,41	1,08	1,21	1,18	1,16*	0,95
V (2018)	1,22	1,16*	1,44	1,20	1,46	1,20	1,16*	1,40

Objaśnienie / Explanatory note:

(*) – deklaracja użycia tłuszczu roślinnego / declared to have used vegetable fat

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

W drugiej serii badań (2015) wskaźnik proporcji 2 spośród analizowanych próbek przekroczył dolną granicę współczynnika dotyczącego tłuszczu kakaowego. Pomimo że były to próbki opatrzone przez producentów deklaracją stosowania tłuszczu roślinnego innego niż kakaowy, wskaźniki osiągnęły wartości poniżej progu wyznaczonego dla 5-procentowego jego dodatku, a więc należy uznać, że próbki o kodach: CG5 i CG7 zostały zafałszowane ponadnormatywnym dodatkiem oleju palmowego. Ogólny udział próbek budzących wątpliwości pod względem ich autentyczności w drugim badaniu wyniósł 25 %. Podobne wyniki uzyskali Kowalska i wsp. [7] w badaniach autentyczności czekolad opublikowanych w roku 2008. Dwie pozostałe próbki (CG2 i CG8) z deklaracją dodatku tłuszczu roślinnego charakteryzowały się wskaźnikami

proporcji o wartościach odpowiednio: 1,27 i 1,21, zbliżonymi do próbek bez deklaracji (tab. 5). Zatem dobry surowiec charakteryzuje się profilem kwasów tłuszczowych pozwalającym na zamaskowanie domieszki wykrywanej w ten sposób. Nieuczciwym producentom dysponującym takim surowcem mogłoby to umożliwić ukrycie niedeklarowanej domieszki do wyrobów czekoladowych. Na przykład tłuszcz kakaowy z Indonezji charakteryzuje się tak korzystnym wskaźnikiem proporcji, że 10-procentowa domieszka oleju palmowego obniża go do wartości ok. 1,29, czyli wyższej niż w przypadku czystego tłuszczu kakaowego z Brazylii.

W trzeciej serii badań (2016) niskimi współczynnikami (poniżej wartości progowej charakterystycznej dla tłuszczu kakaowego) odznaczały się jedynie próbki z deklaracją (o kodach CG2 i CG7), jednak tylko druga z nich (o współczynniku 0,80) plasowała się poniżej progu 5-procentowego dodatku tłuszczu roślinnego, zatem udział zafałszowanych próbek wyniósł 12,5 %.

W czwartej serii badań (2017) niskie współczynniki stwierdzono w 5 spośród 8 analizowanych próbek, w tym w 3 (CG4, CG6 i CG8) bez deklaracji, zatem ponownie odnotowano niedeklarowany dodatek tłuszczu roślinnego innego niż kakaowy. W tej serii badań udział produktów zafałszowanych wyniósł 37,5 % wszystkich próbek. W tym samym roku przekroczenie dopuszczalnej zawartości ekwiwalentów tłuszczu kakaowego (niezadeklarowanych na opakowaniu) wykazała Inspekcja Handlowa, która zakwestionowała 19 spośród 90 skontrolowanych wyrobów kakaowych i czekoladowych [22].

W ostatniej serii badań (2018) 2 spośród analizowanych próbek bez deklaracji cechował wskaźnik proporcji nieznacznie (0,01) poniżej wartości przyjętych dla danej grupy, natomiast próbki z deklaracją użycia tłuszczu roślinnego charakteryzowały się wartością współczynnika 1,16, czyli mieszczące się w przedziale $1,13 \div 1,21$. Świadczy to o 25-procentowym udziale produktów o wątpliwej jakości wśród analizowanych czekolad w tej serii badań.

Na podstawie przeprowadzonych pięcioletnich badań nie można wskazać tendencji zmian liczby zafałszowanych czekolad w analizowanym okresie. Zmienność udziału próbek zafałszowanych miała charakter nieregularny, co może być efektem jakości nabywanego w danym roku surowca lub świadczyć o dostosowaniu nieuczciwych praktyk do kalendarza realizowanych działań kontrolnych.

Wnioski

1. Stwierdzona zawartość podstawowych kwasów tłuszczowych w czekoladach może wskazywać na stosowanie zamienników tłuszczu kakaowego.
2. Udział zafałszowanych produktów wykazuje znaczącą zmienność w okresie realizacji badań.

3. Wartość wskaźnika proporcji kwasów tłuszczowych: stearynowego do palmitynowego wahała się istotnie pomiędzy analizowanymi próbkami czekolad.
4. Wysokiej jakości tłuszcz kakaowy pozwala na uzyskanie odpowiednio wysokiego wskaźnika proporcji nawet z dodatkiem tańszego zamiennika tłuszczu kakaowego.

Literatura

- [1] Aftab A.K., Sherazi S.T.H., Rubina S., Razia S., Ambrat, Arfa Y.: Consequence of fatty acids profile including trans fat in chocolate and pastry samples. *Int. Food Res. J.*, 2013, 20 (2), 601-605.
- [2] Çakmak Y.S., Güler G.Ö., Aktümsek A.: Trans fatty acid contents in chocolates and chocolate wafers in Turkey. *Czech J. Food Sci.*, 2010, 28, 177-184.
- [3] David F., Sandra P., Vickers A.K.: Column selection for the analysis of fatty acid methyl esters. [online]. Agilent Technologies, Inc. 2005. Dostęp w Internecie [05.09.2019]: <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-3760EN.pdf>
- [4] De Lange E.: Sprawozdanie w sprawie kryzysu żywnościowego, oszustw w łańcuchu dostaw żywności i nadzoru nad nimi. Komisja Ochrony Środowiska Naturalnego, Zdrowia Publicznego i Bezpieczeństwa Żywności, 2013/2091(INI).
- [5] Jahurul M., Zaidul I., Norulaini N., Sahena F., Jinap S., Azmir J., Sharif K.M., Mohd Omar A.K.: Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *J. Food Eng.*, 2013, 117 (4), 467-476.
- [6] Kowalczyk S.: Bezpieczeństwo żywności w erze globalizacji. Wyd. SGH Oficyna Wyd., Warszawa 2009, s. 63.
- [7] Kowalska J., Bzducha A., Derewiaka D., Kopańska K., Nitek A.: Ocena autentyczności wybranych czekolad. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 4 (59), 74-79.
- [8] Kowalska M., Aljewicz M., Mroczek E., Cichosz G.: Olej palmowy – tańsza i zdrowsza alternatywa. *Bromatol. Chemia Toksykol.*, 2012, XLV (2), 171-180.
- [9] Ławrowski P.: (Nie)zastąpiony tłuszcz kakaowy. *Masy czekoladowe i czekoladopodobne. Cuk. Piekar.*, 2017, 6, 54-57.
- [10] Mancini A., Imperlini E., Nigro E., Montagnese C., Daniele A., Orrù S., Buono P.: Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: Effects on health. *Molecules*, 2015, 20, 17339-17361.
- [11] De Melo C.W.B., de Jesus Bandeira M., Maciel L.F., da Silva Bispo E., de Souza C.O., Soares S.E.: Chemical composition and fatty acids profile of chocolates produced with different cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivars. *Food Sci. Technol.*, 2020, 40 (2), 326-333.
- [12] Naik B., Kumar V.: Cocoa butter and its alternatives: A review. *J. Biores. Eng. Technol.*, 2014, 1, 7-17.
- [13] Norazura A.M.H., Nur Haqim I., Noor Lida H.M.D.: Enzymatic interesterification of palm fractions for the production of cocoa butter alternatives. *J. Oil Palm Res.*, 2018, 30, 537-547.
- [14] AOAC: Official Methods of Analysis. 963.15 – Fat in Cacao Products. Association of Official Analytical Chemists International 1995.
- [15] Pawłowicz R., Bakula A.: Analiza tłuszczów obecnych w surowcach stosowanych do produkcji czekolady. *Tłuszcze Jadalne*, 2009, 44 (1-2), 53-61.

- [16] Perret D., Gentili A., Marchese S., Sergi M., Caporossi L.: Determination of free fatty acids in chocolate by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2004, 18 (17), 1989-1994.
- [17] PN-EN ISO 12966-1:2015-01. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 1: Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metylowych kwasów tłuszczowych
- [18] PN-EN ISO 12966-2:2017-05. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 2: Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [19] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 4 grudnia 2002 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej wyrobów kakaowych i czekoladowych. *Dz. U.* 2002 r. Nr 214, poz. 1813 z późn. zm.
- [20] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2014 r. w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych. *Dz. U.* 2015 r., poz. 29 z późn. zm.
- [21] Spink J., Moyer D.C.W.: Defining the public health threat of food fraud. *J. Food Sci.*, 2011, 75 (9), 57-63.
- [22] UOKiK: Sprawozdanie z działalności Inspekcji Handlowej w 2017 r. [on line]. UOKiK, Warszawa 2018. Dostęp [24.10.2019]: https://www.uokik.gov.pl/raporty_z_kontroli_inspekcji_handlowej.php
- [23] European Commission: The EU Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance. Food Fraud. Annual Report 2018. [on line]. Dostęp w Internecie [19.06.2019]: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud_network_activity_report_2018.pdf
- [24] Torres-Moreno M., Torrescasana E., Salas-Salvadó J., Blanch C.: Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chem.*, 2015, 166, 125-132.
- [25] Ustawa z dnia 24 października 2008 r. o zmianie ustawy o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych oraz niektórych innych ustaw. *Dz. U.* 2008 r. Nr 214, poz. 1346.
- [26] Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. *Dz. U.* 2006 r. Nr 171, poz. 1225. Tekst jednolity z dnia 14 września 2016 r. *Dz. U.* 2016, poz. 1760.

IDENTIFICATION OF ADULTERATED FAT FRACTION IN SELECTED CHOCOLATES

S u m m a r y

Food fraud is not a new phenomenon, however in the recent studies the scale of the problem has been highlighted along with economic losses accompanying it. According to data dated 2018, the fraud in the food branch is estimated, world-wide, to be close to PLN 129 billion.

Chocolate comes within the group of cocoa and chocolate products. In view of the type of raw material it is produced from, it must meet the requirements specified in the relevant regulations. They include, among others, the conditions under which the lawgiver allows vegetable fat other than cocoa to be added to those products.

The objective of the research study was to identify adulterations of chocolate with a cocoa fat substitute added on the basis of amounts of fatty acids therein and to assess the value of stearic-acid-to-palmitic-acid ratio. The experimental material consisted of eight chocolates of various brands, packed in individual packages, each 100 g of net weight and purchased in retail shops, from different production batches and bought once a year in the years 2014 - 2018. In total 40 chocolates were tested in the given period. It was found that the varying quality of cocoa fat available in the market determined the quality of products manufactured with the use of this raw material. During the research studies, a high variability was identi-

fied of the amount of adulterated products. Significant differences were pointed out in the value of stearic-to-palmitic fatty acids ratio between the chocolate samples analysed; furthermore, it was determined that the high-quality cocoa fat made it possible to obtain a sufficiently high proportion ratio even with the addition of a cheaper cocoa butter replacer.

Key words: chocolate, authenticity, quality, cocoa butter, cocoa butter replacers ☒

MAGDALENA NIEWCZAS-DOBROWOLSKA, TADEUSZ SIKORA

EVALUATION OF RISK PERCEPTION OF SELECTED FOOD HAZARDS USING PERCEIVED FOOD RISK INDEX (PFRI)

Summary

Risk perception depends on many socio-economic and psychological factors. It is very important to know how consumers perceive risks associated with food hazards such as: hormone residues, GM food, food preservatives and trans fats. In the paper, there is presented a tool to measure risk perception – a Perceived Food Risk Index (PFRI). The survey was conducted among 152 young consumers in three regions in Poland, in 2016.

The objective of the paper was to show how consumers perceive some selected food hazards. It has been found that the highest perceived risk was associated with determination whether the hazard is natural or caused by human activities – the sum of average ratings was 15.7. In the case of scientists' knowledge about hazard – the sum of average ratings was 14.7. The lowest perceived risk was associated with the correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food – the sum of average ratings was 11.2, and with the supervision/control of food consumption – the sum of average ratings was 11.6. The survey performed highlights the need for and the importance of measuring and collecting information about the food risk perception by consumers. The perception of food risk impacts their food choices and behaviour when food hazard appears.

Key words: risk perception, food, consumer, Perceived Food Risk Index (PFRI)

Introduction

Risk has become part of our everyday life. Risk-taking is inherent in man's nature and also it boots innovation and development [19]. Ulrich Beck, author of the book "World Risk Society", indicates that the analysis of society response to risk is very important [7, 16]. Consumers perceive the risk associated with a product from biotechnology as high. They do not see the correlation between the biotechnology used in food production and the advantages thereof [14]. Liu and Ma [13] claim that the food-related risk is perceived as low and that it depends on the personality characteristics.

Dr inż. M. Niewczas-Dobrowolska, Katedra Zarządzania Jakością, prof. dr hab. T. Sikora, Katedra Zarządzania Procesowego, Instytut Nauk o Jakości i Zarządzania Produktem, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków. Kontakt: niewczasm@poczta.onet.pl

Consumers' concerns about food safety are mainly driven by food scandals and information shown by media.

Hawkes et al. [8] showed that, compared with other elements, the food-related risks were seen rather as low; the respondents indicated perceived risks in the following order: risk to their personal health (indicated as the first one), social risk (crime, drugs), risk to family (family member health, well-being), risk to their prosperity and food risk. The consumers' perception of food-related risks at a low level could be attributed to a statement that this risk is part of the risk of life. The consumers perceive it as a multi-factor issue; they take into account many non-scientific factors, such as effects of hazard or uncertainty.

Similarly to every process of perception, risk perception is determined by many factors. Those factors are shown in Fig. 1.

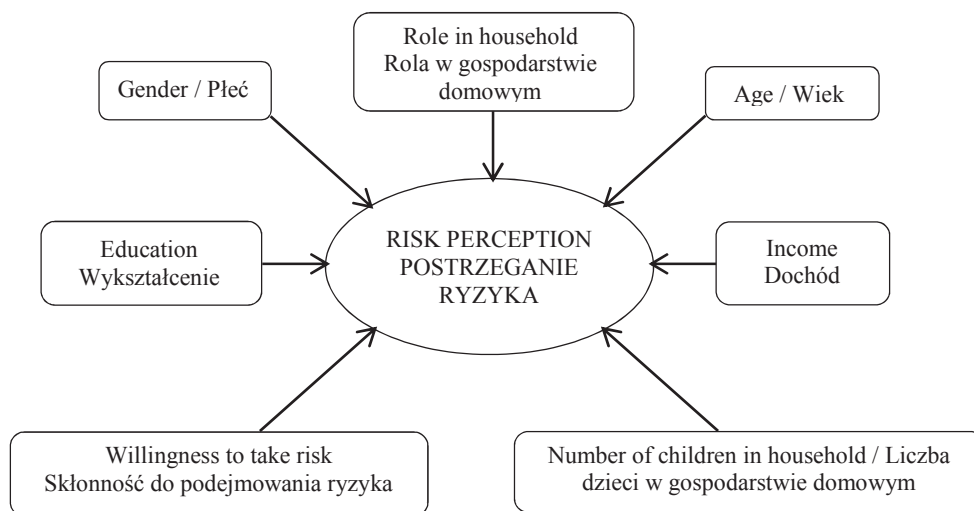


Fig. 1. Socio-economic and psychological factors affecting perception of risk

Rys. 1. Socjologiczne, ekonomiczne i psychologiczne czynniki wpływające na postrzeganie ryzyka

Source / Źródło: the author's own study / opracowanie własne

According to Finucane et al. [6], men perceive risk as lower than do women. This is also confirmed by scientists and experts in this field. White people also evaluate risks lower than the people of other races. Moreover, differently to the whites, men and women of other races perceive risk in the same way. White men assess risk as lower, because they can prioritize risk characterized by their reliance on new technologies. Also, the perception of food as a source of danger is influenced by the presence of children in a household. The respondents, who live at home with children, attach

a much greater role to food-related risks than those living without them. The respondents who bring up small children pay special attention to food as a source of hazard. Housewives, who take care of home and family on a daily basis, pay more attention to food safety than those, who work outside their homes. Young consumers generally perceive the risks as minor. Among the people aged 55 years and more a tendency was found to assess food risk as high. As regards the level of education, a person with a higher level of education perceives food risks as lower. The same correlation is in the case of income – the higher the income, the lower the degree of risk perception; this can be explained by a higher likelihood of purchasing products (usually more expensive), which in respondents' opinion are safer or minimize the risk.

The way consumers perceive risk can be included in one of the three categories as indicated below [24]:

1. The risk associated with the technology is less acceptable than the risk caused by our activities.
2. One's risk of meeting a problem is lower than the average risk.
3. The known risk is less dangerous than the unknown one.

Risk perception is subjective and depends, among others, on the psychological characteristics of a person, knowledge, an object that is a source of risk, experience, etc. The perception of risk refers to an assessment made by the consumer, who expects to be exposed to the hazard and the consequences of its severity. Generally consumers, who assess a risk, are focused on the severity of effects rather than on the likelihood of hazard occurrence [23]. Vulnerability to the risk is associated with the consumer's willingness to take risk.

Consumers, who perceive a high food risk, will look for a type of food, in which the risk can be minimized or eliminated. For example consumers, who are afraid of pesticides contained in the 'conventional' food, want to buy 'eco food' for they can be sure they would avoid the risk [22]. Based on the research by Carvahlo et al. [1], a risk perception process is also determined by a country of origin and cultural similarity. Where it is highly probable that a food risk may appear, consumers perceive the risk as high when the product comes from a country showing cultural similarities to their own country. Then, consumers more often take actions to protect themselves against risk effects. The authors believe that when a hazard occurs in a country supplying goods to the consumer's country, it would be recommended to point out the psychological similarities between the citizens of those two countries in order to make the process of risk communication more efficient.

As Pennings et al. [17] say, consumers can be characterized by the risk perception and the willingness to take risk. According to those two factors, in the case of food hazard, a plan of action should be drafted to deal with it. Should the consumers in a particular country be characterized by a risk averse attitude (e.g. German consumers),

decisive actions should be taken, such as the withdrawal of the product from the market. On the other hand, when consumers base their decisions on risk perception, special attention should be paid to the role of risk communication (e.g. consumers in Denmark and the USA). German consumers are characterized by a high risk aversion (they vehemently reacted to the BSE crisis and stopped buying beef). They see more risks than consumers from other countries. Compared with the Danish consumers or those from the USA, German consumers do not trust the state authorities involved in food safety. When facing a hazard to the food, the Danish consumers decided to reduce the risk of food consumption on the basis of perceived risk, whereas the consumers in the USA based their decisions on the willingness to take risk and the German consumers took those two risk types into consideration.

It is worth mentioning what factors cause social panic as a consequence of risk even when the hazard is relatively small. This process consists of the following elements [20]:

1. Fear factors – refer to the perception of seriousness and severity of the hazard by consumers. They can be caused by an unwitting exposure to any risk without the knowledge about it – e.g. consumers are afraid of chemicals and their residues in food that cannot be identified and to which they are exposed without their knowledge. The fear is greater when such an event is more inevitable, for example BSE and dioxin cannot be removed by washing and thermal treatment. There are divergent opinions of experts, politicians and producers about the hazard.
2. Panic factors – relate to the nature of risk, i.e. whether the hazard is new, unknown or it leads to damage to life or harm to health, and whether it applies to all people or to selected groups only.
3. Media – provide not always confirmed information about culprits and in this way they increase the uncertainty and panic among the public.

The objective of this paper was to show how consumers perceive the risk of some selected food hazards.

Material and methods

To assess the perception of food-related risk, a PFRI (Perceived Food Risk Index) psychometric questionnaire was applied. It was developed by Fife-Schaw and Rowe [5]. The PFRI makes it possible to assess the perception of risk among consumers. This method makes it possible to measure 10 factors that influence a risk perception process. They are as follows: probability of harm to health; concern about hazard; scientists' knowledge about hazard; ease of communicating information about hazard; responsibility-sharing in protection against hazard; frequency of consuming a hazardous product; correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food;

supervision/control of food consumption; determination whether the hazard is natural or caused by human activities; severity of health effects of hazard [3, 5, 10].

A paper survey was applied as a research tool. The survey was conducted in November 2016 and included 152 consumers from three regions of Poland: western, southern and central region. The respondents were students aged 21 to 23 years. The structure of the respondents is shown in Tab. 1.

Table 1. Socio-demographic structure of respondents

Tabela 1. Struktura socjodemograficzna respondentów

Groups of respondents / Grupy respondentów		[N]
Gender / Płeć	Women / Kobiety	90
	Men / Mężczyźni	62
Size of household Wielkość gospodarstwa domowego	A 1-person / 1-osobowe	2
	A 2-person / 2-osobowe	18
	A 3-person / 3-osobowe	37
	A 4-person / 4-osobowe	45
	More than 4 persons / Więcej niż 4-osobowe	50
Place of residence Miejsce zamieszkania	Village / Wieś	56
	City with less than 100,000 inhabitants Miasto poniżej 100 tys. mieszkańców	59
	City with more than 100,000 inhabitants Miasto powyżej 100 tys. mieszkańców	37
Net income per person Dochód netto na osobę	Below 800 zł / Poniżej 800 zł	23
	801 - 1200 zł	41
	1201 - 1600 zł	49
	More than 1600 zł / Więcej niż 1600 zł	35

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

The respondents were requested to assess the probability of risk associated with the GM food, hormone residues, food preservatives and trans fats, with the use of a 5-point scale. The factors were as indicated below:

- 1) probability of harm to health, where the probability was: 1 – low; 2 – quite low; 3 – moderate; 4 – quite high; 5 – high;
- 2) concern about hazard, where there was: 1 – lack of concerns; 2 – just a few concerns; 3 – some concerns; 4 – many concerns; 5 – a very high number of concerns;
- 3) scientists' knowledge about hazard, where there was: 1 – lack of knowledge; 2 – little knowledge; 3 – moderate knowledge; 4 – fairly good knowledge; 5 – sufficient knowledge;

- 4) ease of communicating information about hazard, where the hazard was: 1 – never communicated; 2 – seldom communicated; 3 – sometimes communicated; 4 – communicated to some extent; 5 – definitely communicated;
- 5) responsibility-sharing in protection against hazard, where the responsibility was: 1 – respondent's own; 2 – predominantly respondent's own; 3 – shared by the respondent and the authorities; 4 – almost entirely on the side of the authorities; 5 – entirely on the side of the authorities;
- 6) frequency of consuming a hazardous product, which was: 1 – very seldom; 2 – seldom; 3 – moderate; 4 – often; 5 – very often;
- 7) correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food, where hazardous was: 1 – even a very small quantity; 2 – small quantity; 3 – large quantity; 4 – very large quantity; 5 – the quantity did not present any hazard;
- 8) supervision/control of food consumption, where there was: 1 – lack of control; 2 – some control; 3 – moderate control; 4 – good control, 5 – full control;
- 9) determination whether the hazard is natural or caused by human activities, where the hazard was: 1 – natural; 2 – natural to some extent; 3 – both natural and caused by human activities; 4 – mainly caused by human activities; 5 – wholly caused by human activities;
- 10) severity of health effects of hazard, where there was: 1 – lack of consequences; 2 – little consequences; 3 – moderate consequences; 4 – quite high consequences; 5 – many consequences.

Results and discussion

Looking at the general assessment by the respondents from the three regions (Fig. 2), it should be noted that the highest perceived risk was associated with the determination whether the hazard is natural or caused by human activities – the sum of average ratings was 15.7, and in case of scientists' knowledge about hazard – the sum of average ratings was 14.7. The lowest perceived risk was associated with the correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food – the sum of average ratings was 11.2, and with the supervision/control of food consumption – the sum of average ratings was 11.6. The highest perceived food risk was perceived for food preservatives – the sum of average ratings was 34.2; the lowest was for trans fats – the sum of average ratings was 32.5.

Taking into consideration the assessment made by the respondents from the western region in Poland (Fig. 3), it has been noted that the highest perceived risk was associated with the determination whether the hazard is natural or caused by human activities – the sum of average ratings was 16, and in the case of scientists' knowledge about hazard – the sum of average ratings was 15.5. The lowest perceived risk was associated with the ease of communicating information about the hazard – the sum of

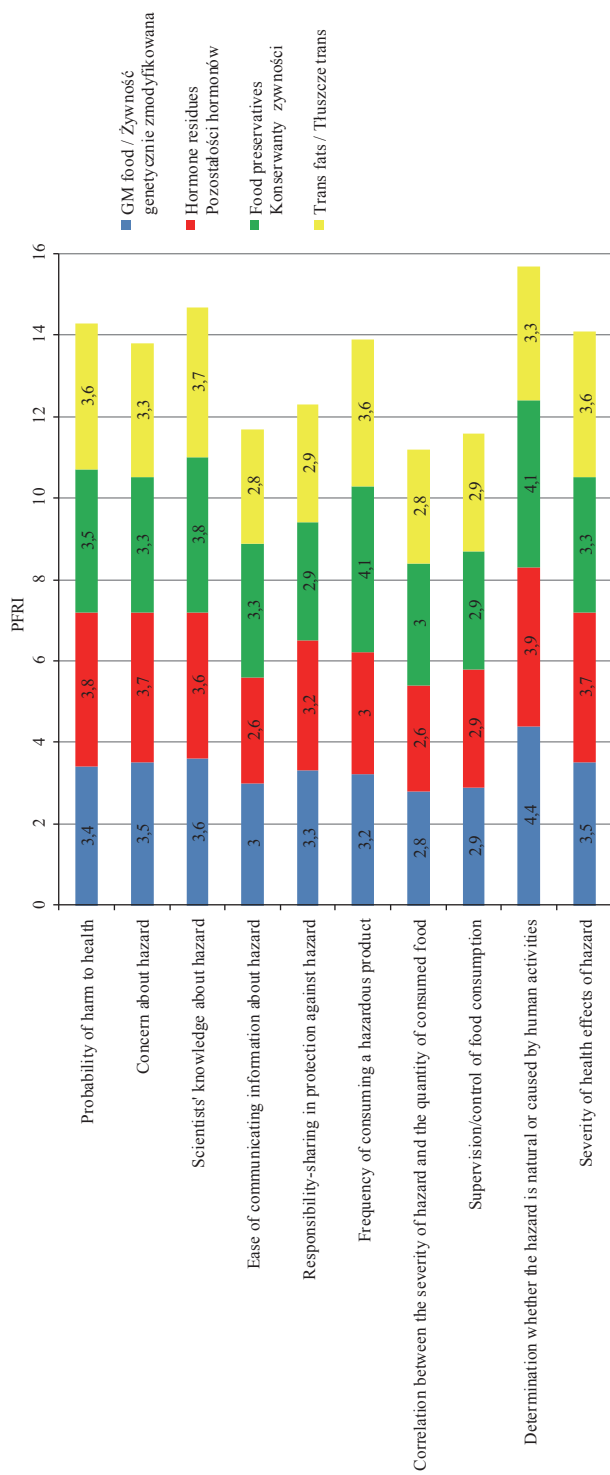
average ratings was 9.9, and with the supervision/control of food consumption – the sum of average ratings was 10.7. The highest perceived food risk was perceived for food preservatives – the sum of average ratings was 34; the lowest was for trans fats – the sum of average ratings was 32.9.

Looking at the assessment made by the respondents from the central region in Poland (Fig. 4), it has been stated that the highest perceived risk was associated with the determination whether the hazard is natural or caused by human activities – the sum of average ratings was 15.8, and in the case of scientists' knowledge about hazard – the sum of average ratings was 14.8. The lowest perceived risk was associated with the correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food – the sum of average ratings was 11.6, and with the supervision/control of food consumption – the sum of average ratings was 12. The highest perceived food risk was perceived for food preservatives – the sum of average ratings was 34.7; the lowest was for trans fats – the sum of average ratings was 33.3.

Looking at the assessment made by the respondents from the southern region in Poland (Fig. 5), it has been concluded that the highest perceived risk was associated with the determination whether the hazard is natural or caused by human activities – the sum of average ratings was 15.2, and in the case of the probability of harm to health – the sum of average ratings was 14.3. The lowest perceived risk was associated with the correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food – the sum of average ratings was 11, and with the supervision/control of food consumption – the sum of average ratings was 11.7. The highest perceived food risk was perceived for food preservatives – the sum of average ratings was 33.6; the lowest was for trans fats and GM foods – the sum of average ratings was 32.2.

The consumers can be divided into 2 groups – those characterized by high risk perception and those distinguished by low risk perception. While making their judgments, the consumers consider the benefits the product or the technology offer and the potential risk-related hazards. When it comes to the GM food, the perception of risk and benefit is interdependent. The dependence is negative, which means that most of the consumers perceive many hazards and little benefits. They give far more consideration to the information about potential hazards than to that about benefits [2].

According to Knight and Warland [11], food safety resides in public perception regardless of the steps farmers, businesses and government agencies take to ensure a safe food supply. Consumers perceive themselves as less vulnerable to food-related risks than other risks. De Sousa Carvalho Rossi et al. [4] conducted a survey on food risk perception among food handlers. They showed that the surveyed food handlers demonstrated a moderate risk perception of food safety, however the perception of the personal risk or risk to their peers was lower.



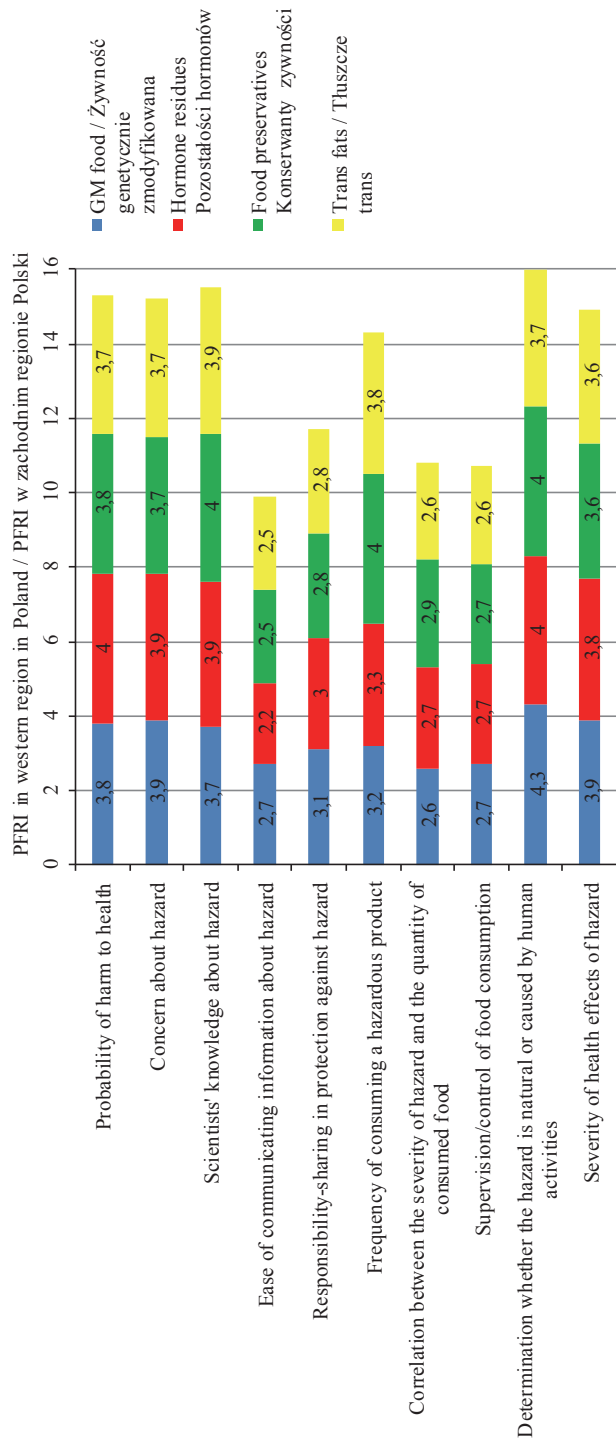
Explanatory notes / Objasnienia:

Probability of harm to health / Prawdopodobieństwo szkodliwości dla zdrowia; Concern about hazard / Obawa dotycząca zagrożenia; Scientists' knowledge about hazard / Wiedza naukowców o zagrożeniu; Ease of communicating information about hazard / Łatwość podania informacji o zagrożeniu; Responsibility-sharing in protection against hazard / Podział odpowiedzialności za ochronę przed zagrożeniem; Frequency of consuming a hazardous product / Częstość konsumpcji ryzykownego produktu; Correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food / Korelacja pomiędzy dotkliwością zagrożenia i skonsumowaną ilością żywności; Supervision/control of food consumption / Kontrola spożywania żywności; Determination whether the hazard is natural or caused by human activities / Ustalenie czy zagrożenie jest naturalne, czy jest spowodowane działaniami człowieka; Severity of health effects of hazard / Dotkliwość skutków zdrowotnych zagrożenia.

Fig. 2. PFRI according to respondents' opinions

Rys. 2. PFRI według opinii respondentów

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

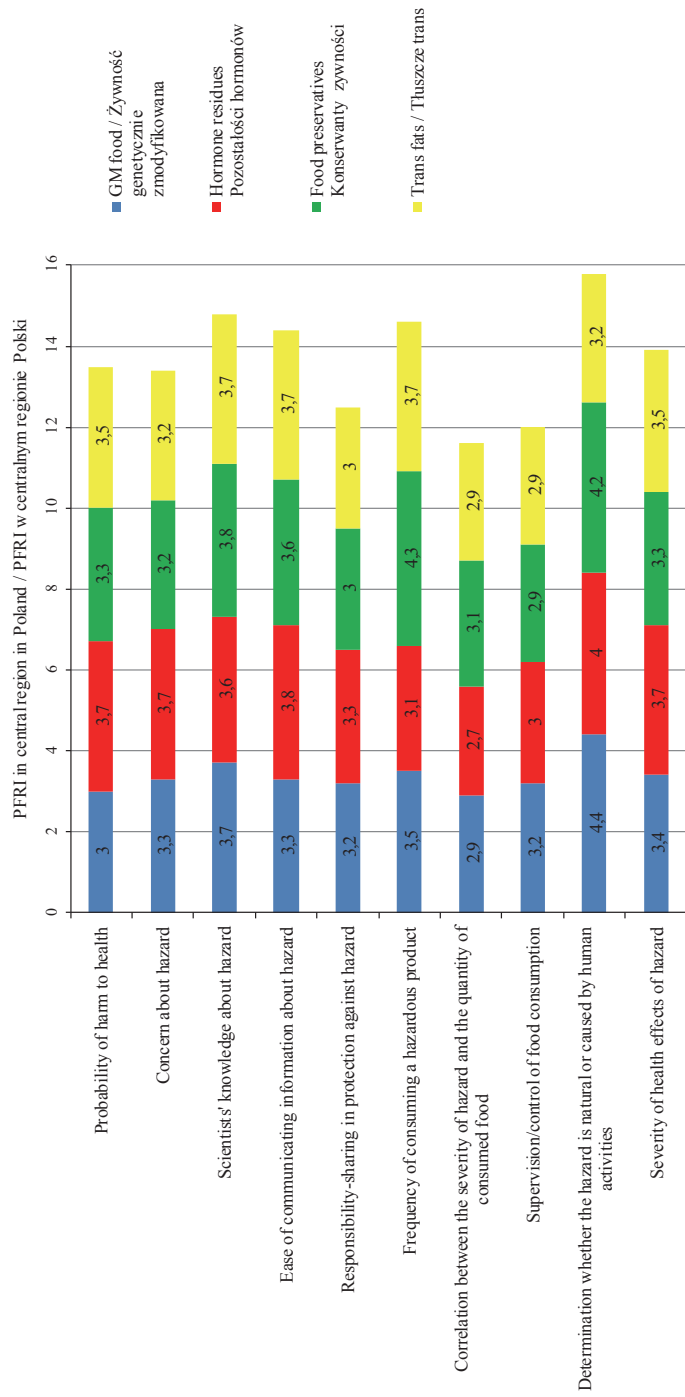


Explanatory notes as in Fig. 2. / Objasnienia jak pod rys. 2.

Fig. 3. PFRI according to opinions of respondents in western region in Poland

Rys. 3. PFRI według opinii respondentów w zachodnim regionie Polski

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

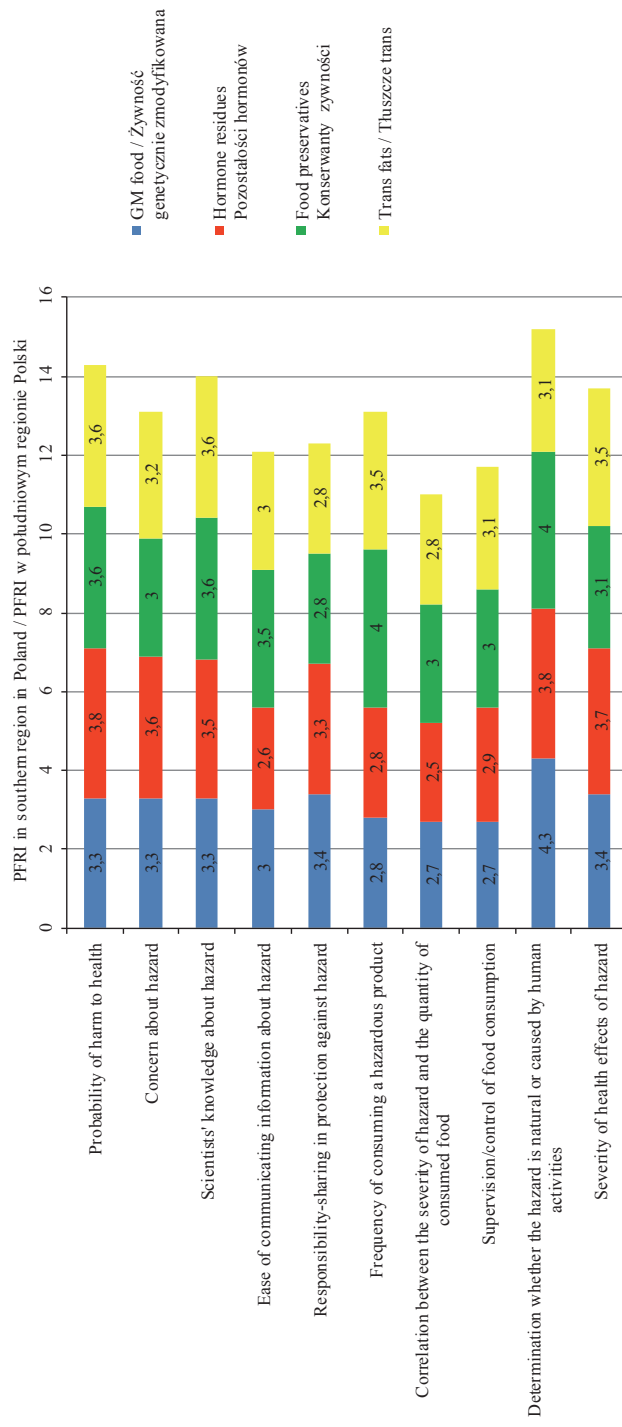


Explanatory notes as in Fig. 2. / Objasnienia jak pod rys. 2.

Fig. 4. PFRI according to opinions of respondents in central region in Poland

Rys. 4. PFRI według opinii respondentów w centralnym regionie Polski

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



Explanatory notes as in Fig. 2. / Objasnienia jak pod rys. 2.

Fig. 5. PFRI according to opinions of respondents in southern region in Poland

Rys. 5. PFRI według opinii respondentów w południowym regionie Polski

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

Niewczas conducted a survey research with the use of a questionnaire and surveyed 724 persons in Poland. The risk assessment scale was a 5-point scale where 5 meant the highest risk. The research-based conclusion was that consumers perceived the food risk dependently on the type of food product. The highest risk was attributed to fresh meat or meat products (4 on average); as next came fish and milk products perceived equally risky (3.1 on average for both of them), and little risk was associated with vegetables and fruits (2.3 on average) [15].

Heyao Yu et al. [9] showed that most consumers have concerns about foodborne illnesses associated with fresh-cut produce and they perceive the respective risk as high, however they perceive the probability of being infected with foodborne pathogens as low.

Tiozzo et al. [18] showed in their research that food risks were associated with specific attributes of food called quality warranties: freshness, naturalness and local provenance. In the opinion of the respondents, the expiry date and food conservation could cause food risks. Consumers focus their attention on the minimum shelf-life or expiration date [12]. Also, consumers are aware of various food risks. Furthermore, Whaley and Tucker [21] expressed an opinion that the main concerns about food referred mainly to: GMO, food bacteria and pesticide contamination.

Conclusions

1. According to the statements in PFRI, risk perception varies and depends on potential hazards.
2. In general, the highest perceived risk is associated with the determination whether the hazard is natural or caused by human activities.
3. The lowest perceived risk is usually associated with the correlation between the severity of hazard and the quantity of consumed food and also with the supervision/control of food consumption.
4. In all the regions surveyed the highest risk is perceived in association with food preservatives, whereas the lowest perceived risk – with trans fats. In the southern region in Poland, both trans fats and the GM foods are perceived in the same way – as the lowest risk.

References


- [1] Carvalho S.W., Block L.G., Sivaramakrishnan S., Manchanda R.V., Mitakakis C.: Risk perception and risk avoidance: The role of cultural identity and personal relevance. *Int. J. Res. Marketing*, 2008, 25, 319-326.
- [2] Costa-Font J., Mossialos E.: Are perceptions of risks and benefits of genetically modified food (in)dependent? *Food Quality Pref.*, 2007, 18, 173-182.

- [3] Cunha L.M., Moura A.P., Lopes Z., Santos M., Silva I.: Public perceptions of food-related hazards: An application to Portuguese consumers. *British Food J.*, 2010, 11 (5), 522-543.
- [4] De Sousa Carvalho Rossi M., Stedefeldt E., da Cunha D.T., de Rosso V.V.: Food safety knowledge, optimistic bias and risk perception among food handlers in institutional food services. *Food Control*, 2017, 73 (Part B), 681-688.
- [5] Fife-Schaw C.R., Rowe G.: Public perceptions of everyday food hazards: A psychometric study. *Risk Analysis*, 1996, 16(4), 487-500.
- [6] Finucane M.L., Slovic P., Mertz C.K., Flynn J., Satterfield T.A.: Gender, race, and perceived risk: the 'white male' effect. *Health, Risk & Society*, 2000, 2, 159-172.
- [7] Grunert K.G.: Current issues in the understanding of consumer food choice. *Trends Food Sci. Technol.*, 2002, 13 (8), 275-285.
- [8] Hawkes G., Houghton J., Rowe G.: Risk and worry in everyday life: Comparing diaries and interviews as tools in risk perception research. *Health, Risk and Society*, 2009, 11 (3), 209-230.
- [9] Yu H., Neal J.A., Sirsat S.A.: Consumers' food safety risk perceptions and willingness to pay for fresh-cut produce with lower risk of foodborne illness. *Food Control*, 2018, 86, 83-89.
- [10] Kirk S.F.L., Greenwood D., Cade J.E., Pearman A.D.: Public perception of a range of potential food risks in the United Kingdom. *Appetite* 2002, 38, 189-197.
- [11] Knight A., Warland R.: The relationship between sociodemographics and concern about food safety issues. *J. Consumer Affairs*, 2004, 38 (1), 107-120.
- [12] Krasnowska G., Salejda A.M.: Ocena wiedzy konsumentów na temat znakowania żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 1 (74), 173-189.
- [13] Liu P., Ma L.: Food scandals, media exposure, and citizens' safety concerns: A multilevel analysis across Chinese cities. *Food Policy*, 2016, 63, 102-111.
- [14] Martinez-Poveda A., Molla-Bauza M.B., del Campo Gomis F.J., Martinez-Carrasco Martinez L.: Consumer-perceived risk model for the introduction of genetically modified food in Spain. *Food Policy*, 2009, 34 (6), 519-528.
- [15] Niewczas M.: Postrzeganie możliwości wystąpienia zagrożenia dla zdrowia ze strony różnych grup żywności. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 2013, 2 (35), 43-53.
- [16] Papadopoulos A., Sargeant J.M., Majowicz S.E., Sheldrick B., McKeen C., Wilson J., Dewey C.E.: Enhancing public trust in the food safety regulatory system. *Health Policy*, 2012, 107 (1), 98-103.
- [17] Pennings J.M.E., Wansink B., Meulenberg M.T.G.: A note on modeling consumer reactions to a crisis: The case of the mad cow disease. *Int. J. Res. Marketing*, 2002, 19, 91-100.
- [18] Tiozzo B., Mari S., Ruzza M., Crovato S., Ravarotto L.: Consumers' perceptions of food risks: A snapshot of the Italian Triveneto area. *Appetite*, 2017, 111, 105-115.
- [19] Vasvari T.: Risk, risk perception, risk management – a review of the literature. *Public Finance Quarterly*, 2015, 1, 29-48.
- [20] Verbeke W., Frewer L.L.J., Scholderer J., de Brabander H.F.: Why consumer behave as they do with respect to food safety and risk information. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 586, 2-7.
- [21] Whaley S.R., Tucker M.: The influence of perceived food risk and source trust on media system dependency. *J. Applied Communications*, 2004, 88 (1), 9-27.
- [22] Williams P.R.D., Hammitt J.K.: Perceived risks of conventional and organic produce: Pesticides, pathogens, and natural toxins. *Risk Analysis*, 2001, 21 (2), 319-330.
- [23] Yeung R.M.W., Morris J.: An empirical study of the impact of consumer perceived risk on purchase likelihood: A modelling approach. *Int. J. Consumer Studies*, 2006, 30 (3), 294-305.
- [24] Zalewski R.I.: Zarządzanie jakością w produkcji żywności. Wyd. AE w Poznaniu, Poznań 2008.

OCENA POSTRZEGANIA RYZYKA WYBRANYCH ZAGROŻEŃ W ŻYWNOŚCI PRZY WYKORZYSTANIU WSKAŹNIKA RYZYKA ŻYWNOŚCIOWEGO (PFRI)**Streszczenie**

Postrzeganie ryzyka zależy od wielu czynników społeczno-ekonomicznych i psychologicznych. Bardzo ważne jest, aby wiedzieć, jak konsumenci postrzegają zagrożenia związane żywnością, takie jak: pozostałości hormonów, żywność zmodyfikowana genetycznie, konserwanty żywności, tłuszcze trans. Przedstawiono narzędzie do pomiaru postrzegania ryzyka – wskaźnik postrzeganego ryzyka żywności (PFRI). Badanie zostało przeprowadzone wśród 152 młodych konsumentów w trzech regionach Polski w 2016 r.

Celem pracy było wykazanie, w jaki sposób konsumenci postrzegają wybrane zagrożenia bezpieczeństwa żywności. Stwierdzono, że najwyższe postrzegane ryzyko wiąże się z tym, czy zagrożenie jest naturalne czy też jest wynikiem działalności człowieka – suma średnich ocen wyniosła 15,7. W przypadku, gdy zagrożenie znane jest naukowcom – suma średnich ocen wyniosła 14,7. Najniżej postrzegane ryzyko związane było z zależnością między dotkliwością skutków zagrożenia a ilością spożywanej żywności – suma średnich ocen wyniosła 11,2 oraz z kontrolą spożywanej żywności – suma średnich ocen wyniosła 11,6. Z przeprowadzonych badań wynika potrzeba i znaczenie pomiaru oraz gromadzenia informacji na temat postrzegania ryzyka żywności przez konsumentów. Postrzeganie ryzyka związanego z żywnością wpływa na ich wybory i zachowanie w sytuacji pojawienia się zagrożenia.

Słowa kluczowe: postrzeganie ryzyka, żywność, konsument, wskaźnik postrzeganego ryzyka żywności (PFRI) 

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 maja 2020 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 31 marca 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie środków dopuszczonych do skażania alkoholu etylowego (Dz. U. 2020 r., poz. 573).

W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 czerwca 2008 r. w sprawie środków dopuszczonych do skażania alkoholu etylowego (Dz. U. 2013 r., poz. 201 oraz z 2015 r., poz. 1780) po § 1 dodano § 1a, który stanowi, że w okresie obowiązywania stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii ogłoszonych na podstawie ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. 2008 r. Nr 234, poz. 1570) minimalna ilość acetonu jako środka skażającego na 100 l alkoholu etylowego (100 %) wynosi 0,75 %.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 2 kwietnia 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w określonych zakładach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2020 r., poz. 605).

W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 maja 2010 r. w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w określonych zakładach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2010 r. Nr 98, poz. 629) wprowadzono na-

- stępujące zmianę: w § 2 w pkt. 4 oraz w § 3 w pkt. 4 wyraz "niepakownym" zastąpiono wyrazem „niepakowany”.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 1 kwietnia 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w rzeźniach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2020 r., poz. 613).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 maja 2010 r. w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w rzeźniach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2010 r. Nr 98, poz 630) uchylono paragrafy 5 - 7.
 4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 2 kwietnia 2020 r. w sprawie wykazu krajowych laboratoriów referencyjnych przeprowadzających badania na potrzeby zadań wykonywanych przez Państwową Inspekcję Ochrony Roślin i Nasiennictwa (Dz. U. 2020 r., poz. 618).
W wykazie krajowych laboratoriów referencyjnych przeprowadzających badania na potrzeby zadań wykonywanych przez Państwową Inspekcję Ochrony Roślin i Nasiennictwa umieszczono Centralne Laboratorium Głównego Inspektoratu Ochrony Roślin i Nasiennictwa w Toruniu.
 5. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 26 marca 2020 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o ochronie zwierząt (Dz. U. 2020 r., poz. 638).
Został ogłoszony jednolity tekst ustawy z dn. 21 sierpnia 1997 r. o ochronie zwierząt.
 6. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 26 marca 2020 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o funduszach promocji produktów rolno-spożywczych (Dz. U. 2020 r., poz. 688).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 22 maja 2009 r. o funduszach promocji produktów rolno-spożywczych. Ustawa reguluje tworzenie, zadania, zasady finansowania, organizację i funkcjonowanie funduszy promocji produktów rolno-spożywczych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2020/484 z dn. 2 kwietnia 2020 r. zezwalające na wprowadzenie na rynek lakto-N-tetraozy jako nowej żywności zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2015/2283 oraz zmieniające rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2017/2470 (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. U. L 2020 r., 103, s. 3).

Lakto-*N*-tetraoza została włączona do unijnego wykazu nowej żywności, która uzyskała zezwolenie, ustanowionego rozporządzeniem wykonawczym (UE) 2017/2470.

Przez okres pięciu lat od dnia wejścia w życie niniejszego rozporządzenia wyłącznie pierwotny wnioskodawca – przedsiębiorstwo Glycom A/S, Hørsholm z Danii otrzymuje zezwolenie na wprowadzanie na rynek w Unii nowej żywności.

2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2020/478 z dn. 1 kwietnia 2020 r. w sprawie sprostowania rozporządzenia wykonawczego (UE) 2017/2470 ustanawiającego unijny wykaz nowej żywności (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. U. L 2020 r., 102, s. 1).

W załączniku do rozporządzenia wykonawczego (UE) 2017/2470 wprowadzono sprostowanie zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia, a dotyczy ono produktu „Olej ze *Schizochytrium* sp. (T18)”.

3. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2020/635 z dn. 12 maja 2020 r. rejestrujące w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń geograficznych nazwę „Podpiwek kujawski” (ChOG) (Dz. U. L 2020 r., 149, s. 1).

Na wniosek Polski o rejestrację nazwy „Podpiwek kujawski”, nazwa „Podpiwek kujawski” (ChOG) zostaje zarejestrowana.

Nazwa określa produkt należący do klasy 1.8. Inne produkty wymienione w załączniku I do Traktatu (przyprawy itd.), określonej w załączniku XI do rozporządzenia wykonawczego Komisji (UE) nr 668/2014. ☒

JUBILEUSZ 50-LECIA PRACY NAUKOWEJ PROF. DR. HAB. INŻ. PIOTRA PRZYBYŁOWSKIEGO



Prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski urodził się 29 czerwca 1946 r. w Zgniłobłotach w powiecie brodnickim. Jest absolwentem I Liceum Ogólnokształcącego im. Filomatów i Filaretów w Brodnicy, które ukończył w 1964 roku. Studia na Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie ukończył w roku 1969 i uzyskał tytuł zawodowy mgra inż. technologii żywności. Bezpośrednio po studiach podjął pracę jako asystent na tym Wydziale. W 1976 r. uzyskał stopień naukowy doktora nauk technicznych, a w 1985 r. stopień naukowy doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych w dyscyplinie chemia i technologia żywności.

W latach 1980 - 1983 odbył dwa staże naukowe we Francji, będąc stypendystą rządu Republiki Francuskiej. W 1980 r. odbył 4-miesięczny staż w Laboratorium Ekologii Mikrobiologicznej w Jouy-en-Josas (INRA) pod Paryżem oraz miesięczny staż w Instytucie Żywności i Chorób Metabolicznych w Akademii Medycznej w Nancy. Podczas pobytu w tych ośrodkach uczestniczył w realizacji projektów badawczych dotyczących możliwości syntezy kancerogennych N-nitrozoamin w żywności i organizmach żywych. W 1983 r. podczas 6-miesięcznego pobytu w Jouy-en-Josas kontynuował te badania, a uzyskane wyniki przedstawił w pracy habilitacyjnej pt. „Studia nad rolą wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej w przemianach azotanów i syntezie N-nitrozoamin”.

W 1986 r. jako docent podjął pracę w Wyższej Szkole Morskiej w Gdyni na Wydziale Administracyjnym, gdzie w latach 1987 - 1993 pełnił funkcję dziekana. W latach 1987 - 1990 był również kierownikiem Zakładu Żywności i Żywności na Statkach, a od 1991 r. kieruje Katedrą Towaroznawstwa i Ładunkoznawstwa, która w 2005 r. zmieniła nazwę na Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością.

W 1994 r. Piotr Przybyłowski uzyskał tytuł naukowy profesora nauk rolniczych i w tym też roku został mianowany na stanowisko profesora zwyczajnego w Wyższej

Szkole Morskiej w Gdyni. W 1996 r. został wybrany na rektora WSM w Gdyni i funkcję tę pełnił przez dwie kadencje do roku 2002. W okresie drugiej kadencji (1999 - 2002) doprowadził uczelnię do statusu Akademii Morskiej (2001) i przyczynił się do zbudowania statku szkoleniowo-badawczego „Horyzont II”. Z kolei w latach 2008 - 2016 był dziekanem Wydziału Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa.

W latach 1994 - 2008 był także zatrudniony na stanowisku profesora zwyczajnego w Akademii Ekonomicznej w Poznaniu na Wydziale Towaroznawstwa w Katedrze Chemii Produktów Naturalnych. W latach 2009 - 2017 był również zatrudniony jako profesor wizytujący w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na Wydziale Nauki o Zdrowiu w Katedrze Żywienia Klinicznego.

Jego dorobek naukowy obejmuje 365 pozycji, w tym: 138 prac opublikowanych w czasopismach naukowych krajowych i zagranicznych, 1 książkę, 4 monografie, 30 rozdziałów w monografiach, 9 podręczników i skryptów, 16 patentów, 123 referaty i komunikaty naukowe oraz 45 prac niepublikowanych. Profesor publikował swoje prace naukowe w takich czasopismach naukowych i wydawnictwach, jak: Biuletyn PAN, Milchwissenschaft, Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, Food Chemistry, Apiacta, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, Towaroznawcze Problemy Jakości / Polish Journal of Commodity Science, Problemy Higieny i Epidemiologii, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, Joint Proceedings, Handel Wewnętrzny, Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis, Problemy Jakości, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, Roczniki PZH, Scandinavian Journal of Nutrition, Annals of Nutrition and Metabolism, Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, Marketing i Zarządzanie, Polish Journal of Natural Sciences, Scientific Reports, Wydawnictwo Naukowe Instytutu Technologii Eksploatacji – PIB w Radomiu, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ w Krakowie, WNT w Warszawie, Oficyna Wydawnicza SGH, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Ekonomicznej w Białymstoku, Wydawnictwo Uniwersytetu Morskiego w Gdyni.

Problematyka badawcza Profesora Przybyłowskiego dotyczy wpływu czynników środowiskowych, parametrów technologicznych oraz warunków przechowywania i transportu na kształtowanie jakości surowców i produktów żywnościowych. Wykonane prace dotyczyły również badania jakości i trwałości towarów pochodzących z ekologicznej produkcji i znajdujących się w sferze obrotu międzynarodowego. Jego dociekania naukowe obejmują także ocenę chemicznego (azotany V i III, N-nitrozoaminy, metale ciężkie, pestycydy) i mikrobiologicznego skażenia produktów żywnościowych z wykorzystaniem instrumentalnych metod analizy jakości i bezpieczeństwa żywności (spektrofotometria, spektrometria masowa, spektrofluorymetria, chromatografia gazowa i cieczowa). W zakres problematyki badawczej Profesora Przybyłowskiego wpisuje się także wykorzystanie zjawiska fluorescencji do identyfikacji odmian miodów oraz ilościowej identyfikacji etanolu w biopaliwie do silników

o zapłonie iskrowym. Tematyka badawcza dotyczy również ekobilansu produktów żywnościowych, projektowania i zarządzania produkcją, zarządzania jakością w cyklu życia produktu oraz ostatnio – pomiaru jakości życia z wykorzystaniem wskaźników zrównoważonego rozwoju oraz użyteczności cząstkowej i całkowitej.

Prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski wypromował 8 doktorów, którymi są dr dr: Maria Śmiechowska, Izabela Steinka, Ewa Stasiuk, Aleksandra Wilczyńska, Ewa Malinowska, Małgorzata Sprawka, Stefan Gębała i Agnieszka Kałaska. Trzy osoby z tego grona – Maria Śmiechowska, Izabela Steinka i Aleksandra Wilczyńska – uzyskały stopień naukowy doktora habilitowanego, a dwie – Maria Śmiechowska i Izabela Steinka – tytuł naukowy profesora. Profesor wypromował także 174 magistrów i inżynierów.

W swoim dorobku naukowym Profesor Przybyłowski ma także recenzje 42 prac doktorskich, 28 prac habilitacyjnych, 16 wniosków na tytuł naukowy profesora i 1 wniosku na tytuł dr. h. c. Recenzował także wiele publikacji naukowych, książek i projektów badawczych.

Jest członkiem prestiżowych instytucji i organizacji naukowych, takich jak: Komitet Nauki o Żywności i Żywieniu PAN, International Association for Commodity Science and Technology, Komisja Nauk Towaroznawczych – Nauk o Jakości PAN, Komisja Analizy Bromatologicznej Komitetu Chemii Analitycznej PAN, Komisja Higieny Żywności i Żywienia Komitetu Żywienia Człowieka PAN, Komitet Badań Naukowych (przewodniczący Sekcji P06-T), Polskie Towarzystwo Towaroznawcze (wiceprezes Zarządu Głównego), Kapituła Pomorskiej Nagrody Jakości.

W dorobku dydaktycznym i organizacyjnym prof. P. Przybyłowskiego należy podkreślić: uruchomienie kierunku studiów Towaroznawstwo na Wydziale Administracyjnym WSM w Gdyni, doprowadzenie tego Wydziału do uzyskania uprawnień nadawania stopnia doktora i doktora habilitowanego nauk ekonomicznych w dyscyplinie naukowej Towaroznawstwo, uruchomienie nowoczesnego Laboratorium Analiz Instrumentalnych oraz wprowadzenie w obszarze dydaktyki, badań naukowych i kierowania uczelnią narzędzi zarządzania i systemów jakości.

W okresie kierowania uczelnią przez Prof. Przybyłowskiego Wydziały: Mechaniczny i Nawigacyjny oraz Studium Doskonalenia Kadr uzyskały certyfikaty Systemu Zarządzania Jakością wg normy PN-ISO 9001:1996 w zakresie jakości kształcenia akademickiego i prowadzenia badań naukowych. W 2000 r. certyfikat wg standardu ISM Code otrzymał Dział Armatorski oraz statki szkolne „Dar Młodzieży” i „Horyzont II”. W 2001 r. Certyfikat PCBC wg normy PN-EN ISO 9001:2001 uzyskał również Pion Dyrektora Administracyjnego.

W roku 2000 Wydział Administracyjny uzyskał pozytywną ocenę PCBC w zakresie systemów zarządzania jakością, spełniając wymogi dotyczące programu, pomocy dydaktycznych, kwalifikacji wykładowców i warunków realizacji zajęć. Pozwoliło

to studentom na zdawanie egzaminu państwowego i uzyskiwanie certyfikatu Asystenta Systemu Zarządzania Jakością. Dotychczas certyfikat ten uzyskało 1580 osób. Dzięki staraniom Rektora Przybyłowskiego nastąpił dalszy rozwój programów kształcenia, który umożliwił studentom uzyskiwanie kolejnych certyfikatów kompetencji.

Za działalność naukową, dydaktyczną i organizacyjną Prof. Piotr Przybyłowski był wielokrotnie honorowany nagrodami ministra, rektora oraz odznaczeniami państwowymi. Został wyróżniony m.in. Brązowym i Złotym Krzyżem Zasługi, Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Medalem Komisji Edukacji Narodowej, Złotym Medalem za Długoletnią Służbę, Złotą Odznaką Honorową Polskiego Towarzystwa Towaroznawczego oraz Złotą Odznaką Polskiego Towarzystwa Towaroznawczego.

Z okazji Jubileuszu 50-lecia pracy naukowej mam przyjemność złożyć Panu Profesorowi w imieniu całej społeczności akademickiej serdeczne gratulacje i życzenia dalszej, pełnej sukcesów działalności naukowej i dydaktycznej. Życzę również zdrowia i wielu lat życia w tak dobrej, jak dotychczas, kondycji.

*Dr hab. inż., prof. UMG. Aleksandra Wilczyńska
Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością
Uniwersytet Morski w Gdyni*

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 30 Nr 2

czerwiec 2020

Zarząd Główny

Zebranie Zarządu Głównego PTTŻ XI kadencji odbyło się 29 maja 2020 r. w formie telekonferencji. Zebranie otworzyła prof. dr hab. Agnieszka Kita, Prezes ZG PTTŻ. Zatwierdzono protokół z poprzedniego zebrania Zarządu, które odbyło się 26 listopada 2019 r. w Warszawie. Następnie Prezes poinformowała o działalności Prezydium ZG, które spotkało się dwukrotnie, by omówić bieżące sprawy związane z funkcjonowaniem Towarzystwa w okresie pandemii w kraju. W dalszej kolejności prof. Kita podsumowała działalność Towarzystwa w roku 2019. Zwróciła uwagę na dużą aktywność Oddziałów i Sekcji. W zakresie finansów podkreśliła, że Towarzystwo otrzymało wsparcie na organizację kilku konferencji naukowych i na działalność Wydawnictwa, a wynik finansowy był dodatni. Wobec braku uwag do sprawozdań z działalności Towarzystwa w 2019 roku w głosowaniach jednomyślnie zatwierdzono sprawozdanie merytoryczne i finansowe za 2019 r. Podjęto uchwałę o przeznaczeniu dochodu na cele statutowe Towarzystwa. Następnie Prezes zwróciła uwagę na wyjątkową sytuację związaną z wprowadzonym stanem pandemii, co spowodowało konieczność zmiany terminów planowanych w 2020 roku konferencji naukowych, z których część została przesunięta na rok 2021, a niektóre odwołane. W dalszej kolejności przedstawiciele Oddziałów poinformowali o bieżącej i planowanej działalności w roku 2020. Ze względu na bieżącą sytuację większość spotkań stacjonarnych w Oddziałach została przełożona lub odwołana. W kilku przypadkach zdecydowano się na przeprowadzenie planowanych spotkań w formie on-line. Następnie Prezes przypomniała o kolejnej edycji konkursu na najlepszą pracę doktorską z zakresu nauk o żywności i zaapelowała o zgłaszanie kandydatów. Jednocześnie zaznaczyła, że ogłoszenie wyników konkursu i wręczenie statuetki odbędzie się podczas konferencji w roku 2021. Jednocześnie przypomniała o kolejnej edycji konkursu na najlepszą pracę opublikowaną w kwartalniku "Żywność. Nauka. Technologia. Jakość" i poprosiła o zgłaszanie przez Oddziały nominowanych artykułów. Na koniec Prof. Kita przekazała krótkie sprawozdanie z realizacji projektu PROM i poinformowała, że zakończona została część badawcza i rozpocznie się w tym roku część wdrożeniowa, w której za jedno zadanie odpowiedzialne jest PTTŻ. Przypomniała, że zadanie to związane jest z wdrożeniem procedury MOST (przekazywania żywności na cele społeczne) w minimum 5 zakładach reprezentujących różne branże przemysłu spożywczego.

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE
W 2020 ROKU

Ze względu na zaistniałą sytuację epidemiczną kalendarz konferencji krajowych i zagranicznych ulega ciągłym zmianom. W sprawie szczegółów prosimy o sprawdzanie aktualnych informacji na stronach odpowiednich konferencji lub kontakt z organizatorami.

Wrzesień

7 - 8 BRNO, Czech Republic = International Conference on Food Science and Technology
Organizatorzy: University of Veterinary and Pharmaceutical Science Brno
Informacje: https://fvhe.vfu.cz/files/Dobes_days_conference.pdf
Kontakt: dobesconference@vfu.cz

28 - 29 **GDAŃSK = XXVIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Innowacyjne podejście do bezpiecznej żywności i racjonalnego żywienia”**
Organizatorzy: Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Ogólnopolska Sekcja Bromatologiczna Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Zespół Analityki Żywności Komitetu Chemii Analitycznej PAN, Zespół Higieny Żywności i Żywienia Komitetu Nauki o Żywieniu Człowieka PAN
Informacje: <http://www.bromatologia2020.gumed.edu.pl>
Kontakt: Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
e-mail: bromatologia2020@gumed.edu.pl; tel. (58) 349-10-89

Październik

PIEŠŤANY, Slovakia = XVII Scientific Conference with International Participation “Food safety and control”
Organizatorzy: Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences of the Slovak University of Agriculture in Nitra; 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

7 - 8 Vienna, Austria = 24th International Conference on Food Technology and Processing with the theme “Explore Advances in the World of Food Processing and Technology”
Organizator: Conferenceseries LLC Ltd

Informacje: <https://foodtechnology.insightconferences.com>

Kontakt: foodtechnology@speakersassembly.org; tel. +44 7480-730483

28 - 29 KRAKÓW = XII Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Wiedza – Gospodarka – Społeczeństwo”

Organizatorzy: Kolegium Nauk o Zarządzaniu i Jakości Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, Fundacja Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie

Informacje: <http://cfm.uek.krakow.pl>

Kontakt: Katarzyna Bień, Monika Satora

e-mail: cmq@uek.krakow.pl ; tel. (12) 293-57-24; (12) 293-54-64

Listopad

25 - 27 KRAKÓW = XVII Konferencja Naukowa z cyklu „Wyzwania Zarządzania Jakością” (online)

Organizatorzy: Koło Naukowe Zarządzania Jakością, Katedra Zarządzania Jakością Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, Polskie Towarzystwo Towaroznawcze – Oddział w Krakowie

Informacje: <https://uek.krakow.pl/artykuly/wydarzenia/xvii-ogolnopolska-konferencja-naukowa-wyzwania-zarzadzania-jakoscia>

e-mail: knzj.uek@gmail.com

Grudzień

1 - 2 BARCELONA, Spain = 25th International Conference on Food Technology and Processing with the theme “Impacts of COVID-19 on the global food technology and processing units in food industry”

Organizator: Conference Series LLC Ltd

Informacje: <https://foodtechnology.insightconferences.com>

Kontakt: events@conferenceseries.com; tel. +44 7480-727986

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE
W ROKU 2021

Kwiecień

19 - 20 KIRY k. ZAKOPANEGO = V Sympozjum Naukowe z cyklu “Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności”

Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka SGGW w Warszawie, Zarząd Główny PTTŻ oraz Sekcja Bezpieczeństwa Żywności KNoŻiŻ PAN

Kontakt: dr inż. Marzena Tomaszewska; tel. (22) 593-70-75

e-mail: sympozjum_bezpieczenstwo@sggw.pl

21 - 23 KIRY k. ZAKOPANEGO = Krokusowe XI Sympozjum Naukowe nt. "Probiotyki i prebiotyki w żywności"

Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW w Warszawie oraz Zarząd Główny PTTŻ

Kontakt: dr inż. Barbara Sionek; tel. (22) 593-70-67

e-mail: sympozjumprobiotyki@gmail.com

Maj

19 - 21 ŠTRBSKÉ PLESO, Slovakia = Hygiena Alimentorum XLI International Scientific Conference "New trends in improving the quality and safety of meat and meat products"

Organizatorzy: Department of Food Hygiene and Technology of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice; State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic; EFSA National Focal Point on Technical and Scientific Matters; Slovak Meat Processors Association; Slovak Society for Agriculture, Forestry, Food and Veterinary Sciences at SAS in Bratislava

Informacje: <http://hygiena-alimentorum.uvlf.sk/>

Kontakt: hygiena.alimentorum@uvlf.sk

tel. +421 905-910-221; +421 915-984-752

20 - 21 WROCLAW = XXV Jubileuszowa Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt. „Przyszłość w żywności – żywność w przyszłości” i VIII International Session of Young Scientific Staff

Organizatorzy: Oddział Wrocławski PTTŻ, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego

Informacje: <https://smkn2020.wordpress.com>

Kontakt: dr inż. Anna Kancelista; e-mail: xxvsmknwroclaw@gmail.com

tel. (71) 320-77-73 / (71) 320-51-83

Czerwiec

WARSZAWA = II Międzynarodowa Konferencja Naukowa z cyklu „Dylematy nauki o żywieniu człowieka – dziś i jutro” pt. „Żywienie a jakość życia osób starszych”

Organizatorzy: Katedra Żywienia Człowieka SGGW, Polskie Towarzystwo Nauk Żywnościowych – Oddział Warszawski

Informacje: http://konferencja_senior2020.sggw.pl/

Kontakt: dr inż. Katarzyna Kozłowska, tel. (22) 59-37-115
dr inż. Monika Zielińska, tel. (22) 59-37-122
e-mail: konferencja_senior2020@sggw.pl

WROCLAW = The 9th International Conference on “Quality and Safety in Food Production Chain”

Organizator: Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Oddział Wrocławski PTTŻ

Informacje: <https://qualityconference.wordpress.com>

Kontakt: quality@wnoz.up.wroc.pl; tel. (71) 320-77-74 (81)

Lipiec

1 - 2 GDAŃSK = XLV Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu PAN pt. „Żywność w strategii Zielonego Ładu”

Organizatorzy: Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej, Oddział Gdański PTTŻ, Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN

Informacje: <https://chem.pg.edu.pl/xlv-sesja-naukowa-knoziz-pan>

Kontakt: dr hab. inż. Edyta Malinowska-Pańczyk, prof. PG, tel. (58) 347-26-56

dr inż. Izabela Sinkiewicz, prof. PG, tel. (58) 347-13-95

e-mail: xlvsesja.naukowa.wch@pg.edu.pl; kom. 504-024-607

12 - 16 KRAKÓW = Konferencja Europejskiego Stowarzyszenia Badaczy Ziemniaka 21st EAPR Triennial Conference

Organizatorzy: European Association for Potato Research, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin

Informacje: <https://www.eapr2020.pl>

Kontakt: Magdalena Owczarek, tel. (12) 651-90-54

e-mail: eapr2020@targi.krakow.pl

Wrzesień

16 - 17 KRAKÓW = XIV Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku“ nt. "Żywność a oczekiwania współczesnego konsumenta"

Organizatorzy: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Informacje: <http://www.pttzm.org>

Kontakt: dr hab. inż. Stanisław Kowalski, prof. UR

e-mail: zywnoscxxi@pttzm.org; tel. (12) 662-47-47

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

KOMUNIKATY

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

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

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. inż. Agnieszka Kita Prezes PTTŻ	UPWr, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: (71) 320-77-62; e-mail: agnieszka.kita@upwr.edu.pl
Dr inż. Krzysztof Kołodziejczyk Sekretarz PTTŻ	PŁ, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: (42) 631-27-77; e-mail: krzysztof.kolodziejczyk@p.lodz.pl
Dr hab. inż., prof. UMG Aleksandra Wilczyńska Oddział Gdański	UM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: (58) 558-62-81; e-mail: a.wilczyńska@wpit.umg.edu.pl
Dr hab. inż., prof. UP Małgorzata Karwowska Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: (81) 462-33-41; e-mail: malgorzata.karwowska@up.lublin.pl
Dr inż. Krzysztof Kołodziejczyk Oddział Łódzki	PŁ, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: (42) 631-27-77; e-mail: krzysztof.kolodziejczyk@p.lodz.pl
Dr hab. inż., prof. UR Mariusz Witczak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel.: (12) 662-48-35; e-mail: rrwiczka@cyf-kr.edu.pl
Prof. dr hab. inż. Iwona Konopka Oddział Olsztyński	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-726 OLSZTYN Tel.: (89) 523-34-66; e-mail: iwona.konopka@uwm.edu.pl
Dr hab. inż., prof. UR 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., prof. ZUT Izabela Dmytrów Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 SZCZECIN Tel.: (91) 449-65-00; e-mail: izabela.dmytrow@gmail.com
Dr hab. inż., prof. SGGW 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. inż. Małgorzata Gumienna Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 848-72-67; e-mail: gumienna@up.poznan.pl
Prof. dr hab. inż. Joanna Kawa-Rygielska Oddział Wrocławski	UPWr, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: (71) 320-77-64; e-mail: pttz_ow@wnoz.up.wroc.pl joanna.kawa-rygielska@upwr.edu.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. inż., prof. UP 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. inż. Antoni Golachowski Technologii Węglowodanów	UPWr, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: (71) 320-77-68; e-mail: antoni.golachowski@upwr.edu.pl
Dr hab. inż. Dorota Walkowiak-Tomczak Technologii Owoców i Warzyw	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 846-60-43; e-mail: dorota.walkowiak@up.poznan.pl
Dr inż. Monika Przeor Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 848-73-30; e-mail: monika.przeor@up.poznan.pl