



# ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

---

# FOOD

Science Technology Quality

**Nr 3 (128)**

**Kraków 2021**

**Rok 28**

**Redaktor naczelny:** prof. dr hab. Lesław Juszczak; 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 Kołozyn-Krajewska (mikrobiologia, bezpieczeństwo i higiena żywności), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (technologia tłuszczy, 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, prof. UJ

**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 Józef 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 (Slowacja), 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 Piskuła, prof. dr Jan Pokorny (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).

**WYDAWCY:** POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2021  
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 3 (128)

Kraków 2021

Rok 28

---

## **SPIS TREŚCI**

Od Redakcji .....	3
OSKAR BROŻEK, KRZYSZTOF BOHDZIEWICZ, KATARZYNA KIEŁCZEWSKA: Wpływ homogenizacji na wybrane cechy mleka odtłuszczonego, skrzepu kwasowego i serwatkii kwasowej...5	
DAMIR MOGUT, ANNA IWANIAK, MAŁGORZATA DAREWICZ: Zastosowanie analizy głównych składowych do badania zależności między strukturą i aktywnością przeciwtleniającą dipeptydów pochodzących z białek żywności.....19	
MACIEJ ŚWITALSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MAGDALENA KAMIŃSKA: Ocena wybranych właściwości fizykochemicznych handlowych odżywek białkowych .....31	
AGNIESZKA LESZCZUK-PIANKOWSKA, BOGUSŁAW PAWLICKOWSKI, PIOTR BYKOWSKI, JUSTYNA FRANKOWSKA: Optymalizacja procesu sterylizacji cieplnej konserw rybnych .....46	
ANITA KUKUŁOWICZ, IZABELA STEINKA, ADRIANNA SIWEK: Produkty pochodzenia wodnego o różnym stopniu przetworzenia jako źródło <i>Staphylococcus aureus</i> metycylinoopornych .....55	
WAWRZYNIEC WACŁAWEK, JOLANTA MAŁAJOWICZ: Zastosowanie wybranych adsorbentów do wydzielania z podłożu hodowanego gamma-dekalaktonu produkowanego przez drożdże <i>Yarrowia lipolytica</i> .....63	
KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, WERONIKA ŚLIŻEWSKA: Jakość mikrobiologiczna owoców suszonych pakowanych hermetycznie i sprzedawanych luzem.....76	
PATRYCJA CICHOŃSKA, MAŁGORZATA ZIARNO: Wpływ kielkowania na zawartość wybranych węglowodanów i polifenoli ogółem w napojach z fasoli białej .....86	
NATALIA WAWRZYNIAK, ANNA GRAMZA-MICHAŁOWSKA, BARTOSZ KULCZYŃSKI, PAWEŁ KOŁODZIEJSKI, JOANNA SULIBURSKA: Wpływ wzbogaconej w wapń dyni na wybrane parametry biochemiczne krwi szczurów po ovariectomii.....95	
BARBARA BORCZAK, MAREK SIKORA, ELŻBIETA SIKORA, JOANNA KAPUSTA-DUCH: Wpływ dodatku wybranych substancji intensywnie słodzących na wartość indeksu glikemicznego <i>in vitro</i> herbatników bezcukrowych .....108	
ANNA PLATTA, KAROLINA ŚMIGAJ: Ocena akceptacji żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+ .....117	
MARIA ŚMIECHOWSKA, MILLENA RUSZKOWSKA: Wpływ przechowywania na parametry jakości soli morskiej.....133	
MAGDALENA KOPACZ, AGNIESZKA PIEKARA, MAŁGORZATA KRZYWONOS: Fermentowana żywność wegańska .....147	
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....160	
TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI: Prof. dr hab. inż. Zbigniew Duda 1929 – 2021 .....162	
HANNA STAROSZCZYK: XLV Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i żywieniu PAN .....166	
<b>Technolog Żywości.....170</b>	

---

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 3 (128)

Kraków 2021

Vol. 28

---

## **CONTENTS**

From the Editor .....	3
OSKAR BROŽEK, KRZYSZTOF BOHDZIEWICZ, KATARZYNA KIEŁCZEWSKA: Effect of homogenisation on selected parameters of skimmed milk, acid curd and acid whey .....	5
DAMIR MOGUT, ANNA IWANIAK, MAŁGORZATA DAREWICZ: Application of principal component analysis to study relationship between structure and antioxidative activity of dipeptides derived from food proteins .....	21
MACIEJ ŚWITALSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MAGDALENA KAMIŃSKA: Evaluation of selected physicochemical properties of commercial protein supplements .....	31
AGNIESZKA LESZCZUK-PIANKOWSKA, BOGUSŁAW PAWLIKOWSKI, PIOTR BYKOWSKI, JUSTYNA FRANKOWSKA: Optimisation of thermal sterilisation process of canned fish products ....	46
ANITA KUKUŁOWICZ, IZABELA STEINKA, ADRIANNA SIWEK: Aquatic products of different processing levels as a source of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
WAWRZYNIEC WACŁAWEK, JOLANTA MAŁAJOWICZ: Applying some selected adsorbents to separate gamma-decalactone produced by <i>Yarrowia lipolytica</i> from culture broth .....	63
KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, WERONIKA ŚLIŻEWSKA: Microbiological quality of dried fruits hermetically packed and sold in bulk .....	76
PATRYCJA CICHOŃSKA, MAŁGORZATA ZIARNO: Effect of germination on content of selected carbohydrates and total polyphenols in white kidney bean beverages .....	86
NATALIA WAWRZYNIAK, ANNA GRAMZA-MICHałOWSKA, BARTOSZ KULCZYŃSKI, PAWEŁ KOŁODZIEJSKI, JOANNA SULIBURSKA: Effect of calcium-enriched pumpkin on selected biochemical blood parameters in rats after ovariectomy.....	95
BARBARA BORCZAK, MAREK SIKORA, ELŻBIETA SIKORA, JOANNA KAPUSTA-DUCH: Effect of added selected strong sweeteners on <i>in vitro</i> glycaemic index value of sugar-free cookies .....	108
ANNA PLATTA, KAROLINA ŚMIGAJ: Evaluating acceptance of food with health-promoting properties by women aged 60+ .....	117
MARIA ŚMIECHOWSKA, MILLENA RUSZKOWSKA: Effect of storage on the quality parameters of sea salt.....	133
MAGDALENA KOPACZ, AGNIESZKA PIEKARA, MAŁGORZATA KRZYWONOS: Fermented vegan foods.....	147
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation .....	160
CREATORS OF THE POLISH FOOD SCIENCE: Prof. Ph. D. Eng. Zbigniew Duda 1929 – 2021 .....	162
HANNA STAROSZCZYK: 45th Scientific Symposium of the Committee on Food and Nutrition Sciences, Polish Academy of Sciences .....	166
<b>The Food Technologist.....</b>	<b>170</b>

---

*Only reviewed papers are published*

---

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

## **OD REDAKCJI**

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 3 (128) czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, w którym zamieściliśmy artykuły będące pokłosiem XLV Sesji Naukowej Komitetu Nauk o Żywności i żywieniu PAN pt. „Żywność w strategii Zielonego Ładu”. Sesja odbyła się w Gdańsku w dniach 1 - 2 lipca 2021 r.

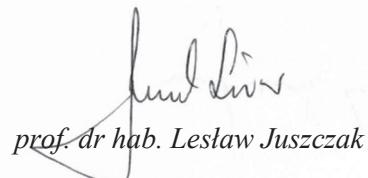
Konferencja została zorganizowana przez Katedrę Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej, Oddział Gdańskiego PTTZ oraz Komitet Nauk o Żywności i żywieniu PAN.

Zamieszczone artykuły są poszerzonymi opracowaniami materiałów, które autorzy prezentowali podczas obrad. Polecamy je uwadze naszych Czytelników, mając nadzieję, że spełnią Państwa oczekiwania.

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

Kraków, wrzesień 2021 r.

Redaktor Naczelnny



prof. dr hab. Lesław Juszczak



OSKAR BROŽEK, KRZYSZTOF BOHDZIEWICZ,  
KATARZYNA KIEŁCZEWSKA

**WPŁYW HOMOGENIZACJI NA WYBRANE CECHY MLEKA  
ODTŁUSZCZONEGO, SKRZEPU KWASOWEGO  
I SERWATKI KWASOWEJ**

**S t r e s z c z e n i e**

W pracy określono wpływ homogenizacji jednostopniowej (200, 500, 1000 i 2000 bar) oraz dwustopniowej (200/100 i 500/250 bar) na wybrane właściwości pasteryzowanego mleka odtłuszczzonego, skrzepu kwasowego uzyskanego z tego mleka pod wpływem bakterii fermentacji mlekowej oraz wpływu homogenizacji na przejście składników suchej substancji mleka do serwatki. Rozmiar ogółu cząstek mleka odtłuszczzonego nie uległ statystycznie istotnej zmianie ( $p > 0,05$ ) w wyniku homogenizacji jednostopniowej przy ciśnieniu 200 bar, natomiast w przypadku homogenizacji dwustopniowej przy ciśnieniu 200/100 bar odnotowano istotny wzrost wielkości cząstek ( $p \leq 0,05$ ). Znaczące zmniejszenie wielkości cząstek nastąpiło w wyniku homogenizacji przy ciśnieniu > 200 bar, zarówno jedno-, jak i dwustopniowej. Obecność dużych cząstek zdefiniowanych średnicą  $d_{v90}$  i  $d_{43}$  w mleku odtłuszczonym była spowodowana prawdopodobnie wpływem wstępnych procesów technologicznych na składniki mleka (wirowanie, pasteryzacja), a zastosowanie ciśnienia homogenizacji > 200 bar wpłynęło na ich eliminację. Odnotowano wpływ dwustopniowej homogenizacji na zmiany parametrów barwy mleka odtłuszczzonego: parametru  $b^*$ , wskaźnika żółtości, nasycenia oraz różnicy tonu i barwy. Nie wykazano jednoznacznego wpływu ciśnienia homogenizacji na jasność i indeks oddalenia od bieli w badanym mleku. Homogenizacja mleka odtłuszczonego (niezależnie od zastosowanych ciśnień) nie wpłynęła na zatrzymanie składników suchej substancji mleka w skrzepie kwasowym oraz na jego zwięzłość. Świadczą o tym wyniki testu kompresji badanego skrzepu: twardość ( $0,43 \div 0,49$  N) i konsystencja ( $4,38 \div 4,76$  N·s) oraz składu serwatki (tłuszcza, białka, laktozy, suchej masy). Zastosowanie homogenizacji nie zakłóca przebiegu procesu produkcji serów twarogowych odtłuszczonych i umożliwia otrzymanie produktu o tekstuurze skrzepu i retencji w nim składników nieróżniących się od skrzepu otrzymanego z mleka odtłuszczonego niehomogenizowanego.

**Słowa kluczowe:** mleko odtłuszczone, homogenizacja, wielkość cząstek, barwa, skrzep kwasowy, tekstura

---

*Mgr inż. O. Brožek, dr hab. inż. K. Kielczewska, prof. UWM, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywieni, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn, dr inż. K. Bohdiewicz. Kontakt: oskar.brozek@uwm.edu.pl*

## Wprowadzenie

W tradycyjnej technologii twarogów mleko ukwaszane jest do punktu izoelektrycznego kazeiny wyłącznie poprzez kwas mlekowy, który syntetyzowany jest przez bakterie fermentacji mlekowej. Uzyskany skrzep zostaje poddany zabiegom mającym doprowadzić do koncentracji składników suchej masy. W wyniku takiego procesu dochodzi do określonej retencji składników mleka. Przemysł mleczarski powszechnie wykorzystuje koagulację białek mleka, w tym kwasową (wyrób mlecznych napojów fermentowanych i serów twarogowych) bądź enzymatyczną (np. sery podpuszczkowe). Mechanizmy prowadzące do koagulacji białek mleka są w obu przypadkach bardzo odmienne. Niezależnie od mechanizmu koagulacji białek mleka jakość skrzepu oraz stopień przejścia składników suchej substancji (a tym samym wydatek produkcji) zależne są od wielu czynników. Można do nich zaliczyć: skład chemiczny i jakość mikrobiologiczną mleka, parametry jego chłodniczego przechowywania oraz wstępnej obróbki technologicznej (np. wirowania, pasteryzacji, normalizacji), charakterystyki działania kultur starterowych [1, 3]. Dodatkowo wydatek produkcji zależy od dalszej obróbki po uzyskaniu skrzepu – parametrów obróbki mechanicznej i termicznej skrzepu, gęstwy oraz ziarna czy też warunków prasowania i formowania twarogów, przy czym znaczącą rolę odgrywa również rodzaj przyjętych rozwiązań i stan techniczny urządzeń procesowych [1, 14]. Czynniki związane z jakością skrzepu decydują o podatności na tzw. pylenie, co ma wpływ na wydatek. Im większy wydatek, tym mniej surowca trzeba zużyć do produkcji, a także zmniejsza się ilość ścieków poprodukcyjnych, wynikających z przejścia składników mleka do serwatki i popłuczyn zamiast do skrzepu.

Homogenizacja stosowana głównie w celu ujednolicenia i zmniejszenia rozmiarów kuleczek tłuszczowych skutkuje osłabieniem zdolności podstojowej mleka, co wykorzystywane jest np. w technologii mleka spożywczego. Jest ona także stosowana do ujednolicenia całej masy produktu, np. w wyrobie tzw. homogenizowanych serków twarogowych. W technologii fermentowanych produktów mleczarskich (np. jogurtu) zapewnia stabilność skrzepu i zapobiega synerezie. W produkcji serów homogenizacja jest zazwyczaj procesem niekorzystnym, gdyż wpływa na pogorszenie związkowości skrzepu poprzez intensywniejsze wiązanie wody przez micelle kazeinowe mleka [3]. Homogenizacja może wpływać na interakcje białek mleka i skutkować włączeniem białek serwatkowych do skrzepu kwasowego, co decyduje o wydatku procesu wytwarzczego. Wpływ homogenizacji wysokociśnieniowej na rozmiar miceli kazeinowych w mleku odtłuszczonego oraz na przebieg koagulacji kwasowej mleka odtłuszczonego i właściwości żelu kwasowego był tematem wcześniejszych badań. Dotyczyły one mleka odtłuszczonego rekonstyтуowanego [16], a także mleka odtłuszczonego o zwiększonej zawartości suchej substancji poprzez dodatek odtłuszczonego mleka w proszku, przeznaczonego do produkcji jogurtu [17]. Proces homogenizacji wysoko-

ciśnieniowej zwiększa szybkość koagulacji kwasowej oraz podpuszczkowej, zarówno w mleku odthuszczonym, jak i pełnym, a także zwiększa zwięzłość skrzepu [5, 17]. Serra i wsp. [17] w technologii jogurtu odthuszczonego zastąpili pasteryzację i homogenizację jednym procesem – ultrawysokociśnieniową homogenizacją i uzyskali produkt o odmiennych właściwościach niż wyrób otrzymywany tradycyjnie. Homogenizacja ultrawysokociśnieniowa ma wpływ na strukturę micel kazeinowych, redukcję ich rozmiarów i zmianę ich składu wskutek oddysocjowania części frakcji do fazy rozpuszczalnej [9, 16, 17]. Ultrawysokociśnieniowa homogenizacja prowadzona w temp. 30 °C ma mniejszy wpływ na zmiany składników mleka (np. powstawanie produktów reakcji Maillarda czy denaturację białek serwatkowych) niż pasteryzacja, co wskazuje na potencjał homogenizacji, jako alternatywnej metody utrwalania mleka [13]. Badania wpływu homogenizacji na właściwości mleka i produktów mleczarskich zazwyczaj dotyczą jednak aspektów związanych z tłuszczem mlekiem [5]. Mając na uwadze stwierdzony wpływ homogenizacji wysokociśnieniowej na zmniejszenie rozmiaru miceli kazeinowych w mleku odthuszczonym [16, 17] oraz na poprawę jakości mikrobiologicznej [5] istotne wydaje się określenie roli tego procesu w kształtowaniu cech reologicznych skrzepów kwasowych, a w konsekwencji serów twarogowych produkowanych poprzez przeprowadzenie koagulacji kwasowej. W niniejszej pracy zastosowano homogenizację przy ciśnieniu od 200 do 2000 bar w technologii sera twarogowego produkowanego z mleka odthuszczonego poddanego koagulacji kwasowej, co jest nowym podejściem w badaniach przedmiotowych, ponieważ w dostępnej literaturze nie rozpatruje się wykorzystywania homogenizacji mleka odthuszczonego w tym celu.

Maksymalne wykorzystanie składników mleka przyczynia się do redukcji strat i kosztów produkcji twarogów oraz do zmniejszenia ilości odpadów poprodukcyjnych. W zakładach mleczarskich serwatka kwasowa nie zawsze jest kierowana do dalszego przetwórstwa i często stanowi produkt uboczny procesu technologicznego, który jest poddawany kosztownej utylizacji. Im więcej składników mleka pozostaje w skrzepie, tym mniej odpadów poprodukcyjnych jako ścieki wpłynie na zanieczyszczenie środowiska [6].

Celem pracy było określenie wpływu homogenizacji jednostopniowej (200, 500, 1000 i 2000 bar) oraz dwustopniowej (200/100 i 500/250 bar) na wybrane właściwości mleka odthuszczonego i skrzepu kwasowego uzyskanego z tego mleka pod wpływem bakterii fermentacji mlekojowej, a także wpływu homogenizacji na przejście składników suchej substancji mleka do serwatki.

### **Material i metody badań**

Mleko surowe, spełniające ustawowe wymagania jakościowe [15], pozyskano ze Stacji Dydaktyczno-Badawczej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Bałdach.

Wstępne zabiegi technologiczne przeprowadzono w skali „pilot plant” z wykorzystaniem modułu przeznaczonego do standaryzacji tłuszcza oraz pasteryzacji, składającego się z wirówki odtłuszczającej MTC3-03-107 (GEA Westfalia Separator Group GmbH, Oelde, Niemcy) oraz wymiennika płytowego z przytrzymywaczem rurowym (OBRAM, Olsztyn, Polska), którego wydajność układu wynosiła 200 dm<sup>3</sup>/h. Mleko podgrzewano do temp. 45 °C, wirowano z użyciem wirówki odtłuszczająco-oczyszczającej, po czym poddawano pasteryzacji na płytowym wymienniku w temp. 72 °C przez 15 s i chłodzono do 6 °C. Bezpośrednio przed homogenizacją odtłuszczone mleko podgrzewano do temp. 30 °C i kierowano do homogenizatora Panda Plus 2000 (GEA Niro Soavi, Parma, Włochy). Stosowano homogenizację jedno- oraz dwustopniową z zastosowaniem zróżnicowanych parametrów ciśnienia (tab. 1). Homogenizacja 200 bar stanowiła homogenizację tradycyjną, natomiast > 200 bar była homogenizacją wysokociśnieniową.

Tabela 1. Parametry homogenizacji mleka  
Table 1. Milk homogenisation parameters

Próba Sample	Parametry homogenizacji / Homogenisation parameters		
	Temperatura Temperature [°C]	Ciśnienie homogenizacji Homogenisation pressure [bar]	
		I stopień / I stage	II stopień / II stage
Mleko niehomogenizowane / Non-homogenised milk			
B	30	200	-
C		500	-
D		1000	-
E		2000	-
F		200	100
G		500	250

Bezpośrednio po zabiegu homogenizacji do mleka dodawano bakterie fermentacji mlekowej – Mesophilic Aromatic Culture DVS CHN-19 (Chr. Hansen, Hoersholm, Dania) w ilości pozwalającej na uzyskanie zakładanej kwasowości po ok. 12 h. Całość umieszczało w zamkniętych pojemnikach, podłączano elektrody pH-metryczne oraz czujniki temperatury, po czym termostatowano w inkubatorze BD 240 (Binder GmbH, Tuttlingen, Niemcy) w temp.  $30,0 \pm 0,4$  °C do chwili osiągnięcia kwasowości skrzepu pH ok. 4,6. Po osiągnięciu zakładanej kwasowości czynnej przystępowało do oznaczania wybranych cech tekstury, takich jak: twardość, konsystencja, spoistość i indeks lepkości. Po dokonanych pomiarach skrzep krojono, a odczerpaną serwatkę pobierano do dalszych analiz. Do badań użyto mleka odtłuszczonego pasteryzowanego, mleka odtłuszczonego pasteryzowanego po homogenizacji w wymienionych warunkach (pomiary podstawowego składu chemicznego, wielkości cząstek i ich rozkładu oraz bar-

wy), powstały z nich skrzepu kwasowego (pomiary tekstury) oraz serwatki kwasowej (pomiary podstawowego składu chemicznego).

Pomiary podstawowego składu chemicznego mleka i serwatki kwasowej prowadzono z zastosowaniem MilkoScan™ FT2 (Foss, Hilleroed, Dania).

W pomiarach kwasowości czynnej stosowano wielokanałowy rejestrator Cerklo Lab System Multiplekser pH/pC/mV (Cerklo Sp. z o.o. Sp.k., Gdańsk, Polska). Zastosowano elektrody zespalone typu ERH-111 (Hydromet s. c., Gliwice, Polska). Równolegle z pomiarem kwasowości kontrolowano temperaturę podczas procesu.

Pomiary wielkości cząstek wykonywano metodą dyfrakcji laserowej za pomocą analizatora Mastersizer 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Wielka Brytania) z przystawką HydroEV. Jako dyspergant stosowano wodę dejonizowaną (Millipore Milli-Q, Millipore SAS, Molsheim, Francja). Współczynniki załamania światła mleka i dyspergenta wynosiły odpowiednio: 1,460 i 1,330. Zastosowano model rozpraszania Mie według ISO 13320:2020 [7]. Na podstawie pomiarów określano wielkości opisujące rozmiar cząstek w badanym mleku odłuszczonym [10]:

- $d_{v10}$  – poniżej tej wartości znajduje się 10 % całego rozkładu,
  - $d_{v50}$  – mediana – dzieli rozkład na 2 równe części: 50 % powyżej i 50 % poniżej tej wartości,
  - $d_{v90}$  – 90 % rozkładu leży poniżej tej wartości,
- oraz średnie średnice:
- $d_{43}$  – średnica de Brouckere'a:  $d_{43} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$ ,
  - $d_{32}$  – średnica Sautera:  $d_{32} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$ ,
- gdzie:  $n_i$  – liczba cząstek o średnicy  $d_i$ .

Pomiary barwy wykonywano metodą odbiciową z użyciem kolorymetru Chroma Meter CR-400 wraz z oprogramowaniem komputerowym Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX Professional, Ver. 2.0 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japonia). Koloryметр wykalibrowano na wzorcu bieli (C: L\* = 95,42; a\* = 4,89; b\* = -2,43). Przyjęte warunki oznaczenia: oświetlenie rozproszone, 0° pomiar (z wyłączeniem składowej lustrzanej), obserwacja pod standardowym kątem 10°, iluminant C. Rejestrowano parametry wartości składowych w systemie CIE L\*a\*b\*. Parametr L\* opisuje jasność barwy i przyjmuje wartości od 0 (absolutna czerń) do 100 (absolutna biel). Parametry a\* i b\* wyrażają chromatyczność barwy. Zmiany udziału barw zielonej i czerwonej określa parametr a\*, w zakresie wartości od -60 (zielona) do 60 (czerwona), natomiast udział barw niebieskiej i żółtej opisuje parametr b\*, w zakresie wartości od -60 (niebieska) do 60 (żółta) [4, 8, 21]. Próbki mleka umieszczano w szklanej kuwecie pomiarowej o średnicy 40 mm.

Na podstawie uzyskanych wyników pomiaru parametrów barwy wyznaczono [4, 8, 12]:

- nasycenie barwy:  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ,

- kąt tonu (odcienia) barwy (od 0 do 360 °):  $h^*_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$ ,
- indeks żółtości:  $YI = 142,86b^*/L^*$ ,
- indeks oddalenia od bieli:  $WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ .

Dodatkowo w próbkach mleka homogenizowanego (B - G) w stosunku do mleka niehomogenizowanego (A) obliczono:

- bezwzględną różnicę barwy:  $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ ,
- zmianę nasycenia barwy:  $\Delta C^* = C^*_1 - C^*_0$ ,
- różnicę tonu:  $\Delta H^* = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2}$ .

W instrumentalnych badaniach tekstury używano teksturometru Texture Analyser TA.XT.plus (Stable Micro Systems, Sussex, Wielka Brytania) z oprogramowaniem komputerowym Texture Exponent 32. Analizator był dodatkowo wyposażony w komorę termostatową typu Micro (Temperature Applied Sciences Ltd., West Sussex, Wielka Brytania). Stosowano głowicę pomiarową SMS P/25. Prędkość przesuwu głowicy przed pomiarem – 2,00 mm/s, prędkość głowicy w czasie kompresji – 1,00 mm/s, prędkość po zakończeniu pomiaru – 5,00 mm/s, głębokość penetracji głowicy – 20,00 mm, siła detekcji nacisku – 5,0 g. Analizę prowadzono w temp. 30 °C. W skrzepach kwasowych analizowano następujące wyróżniki: twardość, konsystencję, spoistość i indeks lepkości. Twardość określano jako maksymalną siłę nacisku końcówki pomiarowej na badaną próbke, zaś spoistość – jako wartość maksymalnej siły niezbędnnej do pokonania oporu próbki w czasie powrotu końcówki pomiarowej do pozycji wyjściowej. Pole powierzchni pod krzywą zmian siły nacisku w czasie wyznaczało konsystencję, natomiast pole powierzchni ograniczonej krzywą zmian siły niezbędnnej do pokonania oporu próbki w określonym czasie stanowiło indeks lepkości. Spoistość i indeks lepkości uzyskiwały wartości ujemne, co wynikało z kierunku działania trzpienia pomiarowego.

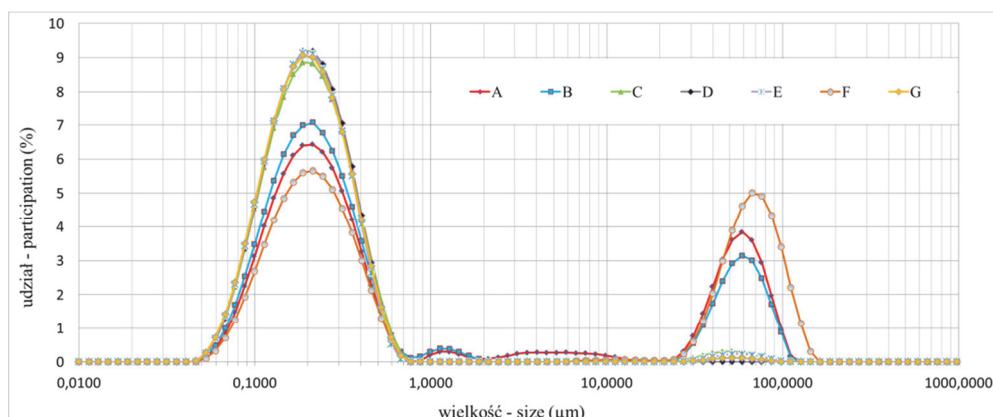
Wszystkie analizy wykonano w czterech powtórzeniach, dla każdej próbki dwukrotnie. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczono wartości średnie, odchylenia standardowe oraz oszacowano statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi przy zastosowaniu jednoczynnikowej analizy wariancji oraz testu post-hoc Dunca ( $p \leq 0,05$ ). Obliczenia wykonano za pomocą pakietu statystycznego StatSoft Inc. Statistica v. 13.1 software (Tulsa, Oklahoma, USA).

## **Wyniki i dyskusja**

Mleko surowe zawierało  $4,41 \pm 0,02$  % tłuszcza,  $3,57 \pm 0,01$  % białka, w tym  $2,79 \pm 0,03$  % kazeiny,  $4,90 \pm 0,02$  % laktozy oraz  $13,65 \pm 0,02$  % suchej masy. Mleko odłuszczone, przeznaczone do homogenizacji, zawierało  $0,02 \pm 0,01$  % tłuszcza,  $3,84 \pm 0,02$  % białka, w tym  $2,99 \pm 0,02$  % kazeiny,  $5,36 \pm 0,01$  % laktozy i  $9,67 \pm 0,02$  % suchej substancji. Podstawowy skład chemiczny mleka surowego i odłuszczonego był

typowy i charakterystyczny dla mleka krowiego [2], przy czym zastosowana homogenizacja nie wpłynęła na zawartość podstawowych składników w mleku odtłuszczonym.

Wielkość kuleczek tłuszczywych w mleku zawiera się w zakresie  $0,2 \div 15 \mu\text{m}$  i jest zależna od wielu czynników, w tym pory roku czy fazy laktacji [2, 9]. Rozmiar miceli kazeinowych jest natomiast zdecydowanie mniejszy od rozmiaru kuleczek tłuszczywych i wynosi średnio  $154 \div 230 \text{ nm}$ , przy czym ich średnica może dochodzić nawet do  $487 \text{ nm}$  [9]. Rozkład wielkości ogólna częstek mleka odtłuszczonego niehomogenizowanego oraz poddanego homogenizacji jednostopniowej przy ciśnieniu 200 bar oraz dwustopniowej przy ciśnieniu 200/100 bar charakteryzował się głównie częstek wielkości  $25 \div 150 \mu\text{m}$ . W mleku poddanyhomogenizacji z zastosowaniem pozostałych ciśnień nie stwierdzono wystąpienia częstek o dużych rozmiarach w takim zakresie. Obecność dużych częstek zdefiniowanych średnicą  $d_{v90}$  i  $d_{43}$  w mleku odtłuszczonym była spowodowana prawdopodobnie wpływem wstępnych procesów technologicznych (wirowaniem, pasteryzacją) na składniki mleka, a zastosowanie ciśnienia homogenizacji  $> 200$  bar wpłynęło na ich eliminację. Interpretację graficzną ilustrującą rozkład wielkości częstek (rys. 1) potwierdzono wartościami parametrów opisujących wielkość częstek (tab. 2).



Rys. 1. Rozkład wielkości częstek niehomogenizowanego mleka odtłuszczonego (A), mleka homogenizowanego jednostopniowo przy ciśnieniu: 200 bar (B), 500 bar (C), 1000 bar (D), 2000 bar (E) oraz homogenizowanego dwustopniowo przy ciśnieniu: 200/100 bar (F) i 500/250 bar (G)  
 Fig. 1. Size distribution of particles of skimmed milk that was: non-homogenised (A), single-stage homogenised at a pressure of: 200 bar (B), 500 bar (C), 1000 bar (D), 2000 bar (E) and double-stage homogenised at a pressure of: 200/100 bar (F) and 500/250 bar (G)

Homogenizacja jednostopniowa przy ciśnieniu 200 bar nie wpłynęła na zmianę wartości parametrów opisujących wielkość częstek. W wyniku homogenizacji dwustopniowej przy ciśnieniu 200/100 bar wartości tych wskaźników wzrosły statystycznie

istotnie w stosunku do wartości mleka niehomogenizowanego. Zastosowanie ciśnienia powyżej 200 bar spowodowało statystycznie istotne obniżenie wartości wszystkich zmierzonych parametrów (tab. 2).

Tabela 2. Wielkość cząstek mleka odłuszczonego  
Table 2. Size of skimmed milk particles

Próba Sample	$d_{32}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{43}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{v10}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{v50}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{v90}$ [ $\mu\text{m}$ ]
A	$0,27^{\text{b}} \pm 0,03$	$16,14^{\text{b}} \pm 6,19$	$0,12^{\text{b}} \pm 0,01$	$0,30^{\text{b}} \pm 0,04$	$63,42^{\text{b}} \pm 14,56$
B	$0,24^{\text{b}} \pm 0,02$	$13,17^{\text{b}} \pm 5,12$	$0,12^{\text{b}} \pm 0,00$	$0,26^{\text{bc}} \pm 0,02$	$53,29^{\text{b}} \pm 29,43$
C	$0,19^{\text{c}} \pm 0,00$	$1,34^{\text{c}} \pm 1,68$	$0,1^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,21^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,44^{\text{c}} \pm 0,05$
D	$0,18^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,24^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,11^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,21^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,40^{\text{c}} \pm 0,00$
E	$0,18^{\text{c}} \pm 0,00$	$1,11^{\text{c}} \pm 1,36$	$0,11^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,21^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,41^{\text{c}} \pm 0,03$
F	$0,31^{\text{a}} \pm 0,05$	$28,14^{\text{a}} \pm 8,75$	$0,13^{\text{a}} \pm 0,01$	$0,38^{\text{a}} \pm 0,10$	$88,58^{\text{a}} \pm 14,46$
G	$0,18^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,62^{\text{c}} \pm 0,86$	$0,10^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,21^{\text{c}} \pm 0,00$	$0,41^{\text{c}} \pm 0,02$

#### Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie  $\pm$  odchylenia standardowe / Table shows mean values  $\pm$  standard deviations; a, b, ... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi małymi literami w indeksie górnym różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / mean values in columns denoted by different lowercase letters in the superscript differ significantly ( $p \leq 0,05$ );  $d_{32}$  – średnica Sautera / Sauter mean diameter,  $d_{43}$  – średnica de Brouckere'a / de Brouckere mean diameter,  $d_{v10}$ ,  $d_{v50}$ ,  $d_{v90}$  – średnica, przy której odpowiednio 10 %, 50 % i 90 % próbki składa się z cząstek o średnicy mniejszej niż ta wartość / diameter at which 10 %, 50 % and 90 % of sample, respectively, consists of particles with diameter lower than that value; A – mleko odłuszczone niehomogenizowane / non-homogenised skimmed milk, B - E – mleko odłuszczone homogenizowane jednostopniowo pod ciśnieniem: 200 bar (B), 500 bar (C), 1000 bar (D), 2000 bar (E) / single-stage homogenised skimmed milk at a pressure of: 200 bar (B), 500 bar (C), 1000 bar (D), 2000 bar (E); G - F – mleko odłuszczone homogenizowane dwustopniowo pod ciśnieniem: 200/100 bar (F) i 500/250 bar (G) / double-stage homogenised skimmed milk at a pressure of: 200/100 bar (F) and 500/250 bar (G).

Homogenizacja mleka odłuszczonego wpłynęła na zmianę parametrów i wskaźników barwy (tab. 3).

Jasność ( $L^*$ ) próbek homogenizowanych jednostopniowo (B - E) w porównaniu z próbками mleka odłuszczonego niehomogenizowanego (A) uległa przesunięciu w kierunku czerni (obniżenie wartości  $L^*$ ), natomiast jasność próbek homogenizowanych dwustopniowo (F - G) uległa przesunięciu w kierunku bieli (wzrost wartości  $L^*$ ). Największą jasnością charakteryzowała się próbka F. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic między wartością  $L^*$  homogenizowanego mleka (B - G) a mlekiem niehomogenizowanym (A). Jasność mleka homogenizowanego jednostopniowo (próbki B - E) oraz dwustopniowo (próbki F - G) różniła się statystycznie istotnie. Parametr  $a^*$  (pozycjonowanie pomiędzy barwą zieloną a czerwoną) barwy wszystkich próbek przyjmował ujemną wartość, co świadczy o pozycjonowaniu w kierunku barwy zielonej. W przypadku tego parametru odnotowano statystycznie istotne różnice pomiędzy

Tabela 3. Parametry barwy mleka odtłuszczonego  
Table 3. Colour parameters of skimmed milk

Próba Sample	$L^*$ [-]	$a^*$ [-]	$b^*$ [-]	$C^*$ [-]	WI [-]	YI [-]	$h^*$ [°]	$\Delta E^*$ [-]	$\Delta C^*$ [-]	$\Delta H^*$ [-]
A	86,20 <sup>ab</sup> ± 0,62	-5,55 <sup>cd</sup> ± 0,20	-0,13 <sup>c</sup> ± 0,31	5,56 <sup>c</sup> ± 0,20	85,12 <sup>ab</sup> ± 0,65	-0,22 <sup>c</sup> ± 0,51	181,31 <sup>a</sup> ± 3,12	-	-	-
B	85,12 <sup>b</sup> ± 0,72	-5,63 <sup>d</sup> ± 0,16	-0,64 <sup>c</sup> ± 0,09	5,67 <sup>c</sup> ± 0,17	84,07 <sup>b</sup> ± 0,73	-1,07 <sup>c</sup> ± 0,15	186,47 <sup>a</sup> ± 0,73	1,56 <sup>c</sup> ± 0,65	0,11 <sup>c</sup> ± 0,34	0,89 <sup>c</sup> ± 0,32
C	85,15 <sup>b</sup> ± 0,82	-5,45 <sup>bcd</sup> ± 0,17	-0,35 <sup>c</sup> ± 0,12	5,46 <sup>cd</sup> ± 0,17	84,17 <sup>ab</sup> ± 0,81	-0,59 <sup>c</sup> ± 0,21	183,67 <sup>a</sup> ± 1,26	1,43 <sup>c</sup> ± 0,78	-0,10 <sup>c</sup> ± 0,21	0,70 <sup>c</sup> ± 0,40
D	85,98 <sup>ab</sup> ± 0,88	-5,07 <sup>a</sup> ± 0,11	-0,27 <sup>c</sup> ± 0,45	5,09 <sup>d</sup> ± 0,11	85,08 <sup>ab</sup> ± 0,84	-0,44 <sup>c</sup> ± 0,74	182,98 <sup>a</sup> ± 5,12	1,10 <sup>c</sup> ± 0,23	-0,47 <sup>c</sup> ± 0,31	0,44 <sup>c</sup> ± 0,30
E	85,09 <sup>b</sup> ± 0,75	-5,27 <sup>ac</sup> ± 0,13	-0,30 <sup>c</sup> ± 0,20	5,28 <sup>cd</sup> ± 0,13	84,18 <sup>ab</sup> ± 0,74	-0,51 <sup>c</sup> ± 0,33	183,26 <sup>a</sup> ± 2,06	1,48 <sup>c</sup> ± 0,73	-0,28 <sup>c</sup> ± 0,24	0,69 <sup>c</sup> ± 0,38
F	87,04 <sup>a</sup> ± 0,80	-5,24 <sup>ab</sup> ± 0,11	3,50 <sup>b</sup> ± 0,46	6,31 <sup>b</sup> ± 0,27	85,60 <sup>a</sup> ± 0,76	5,74 <sup>b</sup> ± 0,75	146,15 <sup>b</sup> ± 3,78	3,63 <sup>b</sup> ± 0,43	0,72 <sup>b</sup> ± 0,15	3,34 <sup>b</sup> ± 0,47
G	86,90 <sup>a</sup> ± 0,47	-5,06 <sup>a</sup> ± 0,16	6,43 <sup>a</sup> ± 0,59	8,18 <sup>a</sup> ± 0,47	84,55 <sup>ab</sup> ± 0,64	10,57 <sup>a</sup> ± 1,03	128,29 <sup>c</sup> ± 2,78	6,47 <sup>a</sup> ± 0,57	2,62 <sup>a</sup> ± 0,48	5,83 <sup>a</sup> ± 0,52

Objaśnienia / Explanatory notes:

$L^*$  – jasność / lightness,  $a^*$  – pozycjonowanie pomiędzy zieloną i czerwoną / position between green and red,  $b^*$  – pozycjonowanie pomiędzy barwą niebieską i żółtą / position between blue and yellow,  $C^*$  – nasycenie barwy / colour saturation, WI – indeks oddalenia od bieli / whiteness index, YI – indeks żółtości / yellowness index,  $h^*$  – kąt tonu / hue angle,  $\Delta E^*$  – bezwzględna różnica barwy / absolute difference in colour,  $\Delta C^*$  – różnica nasycenia barwy / difference in colour saturation,  $\Delta H^*$  – różnica tonu / difference in hue. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2. / Other explanatory notes as in Tab. 2.

dwiema grupami jednorodnymi statystycznie. Pierwszą grupę jednorodną statystycznie stanowiło mleko niehomogenizowane (A), homogenizowane jednostopniowo przy ciśnieniach 200 bar (B) i 500 bar (C), a drugą mleko homogenizowane jednostopniowo przy ciśnieniach 1000 bar (D) i 2000 bar (E) oraz homogenizowane dwustopniowo (F - G). Parametr  $b^*$  barwy mleka niehomogenizowanego oraz homogenizowanego jednostopniowo (A - E) charakteryzował się ujemnymi wartościami, a więc pozycjonowaniem w kierunku barwy niebieskiej, natomiast mleka poddanego homogenizacji dwustopniowej (F - G) osiągał wartości dodatnie, co świadczy o pozycjonowaniu w kierunku żółtym. Wartości parametru  $b^*$  jednorodnych statystycznie próbek A - E oraz jednorodnych statystycznie próbek F - G różniły się statystycznie istotnie między sobą, co przekładało się na zróżnicowanie pozostałych parametrów barwy mleka, takich jak indeks żółtości (YI), kąt tonu barwy ( $h^\circ$ ), bezwzględna różnica tonu ( $\Delta H^*$ ) oraz bezwzględna różnica barwy ( $\Delta E^*$ ). Nasycenie barwy ( $C^*$ ) różniło się nieznacznie w próbkach homogenizowanych jednostopniowo (B - E), a także pomiędzy nimi a próbką kontrolną (A). Wartości parametrów  $\Delta E^*$ ,  $\Delta C^*$  i  $\Delta H^*$  mleka poddanego homogenizacji jednostopniowej stanowiły grupę jednorodną i różniły się statystycznie istotnie od wartości charakteryzujących mleko poddane homogenizacji dwustopniowej. Dodatkowo w przypadku parametru  $b^*$ , nasycenia barwy  $C^*$ , zmiany nasycenia barwy ( $\Delta C^*$ ), indeksu żółtości (YI), kąta tonu barwy ( $h^\circ$ ) i bezwzględnej różnicy tonu ( $\Delta H^*$ ) homogenizowane dwustopniowo próbki F i G różniły się od siebie statystycznie istotnie. W przypadku indeksu oddalenia od bieli (WI) nie zaobserwowano wpływu homogenizacji na zmianę tego wskaźnika. Podsumowując – na podstawie wyników pomiarów i obliczeń stwierdzono, że homogenizacja, w szczególności dwustopniowa, wpływała na parametry barwy, podczas gdy w przypadku homogenizacji jednostopniowej różnice w odniesieniu do mleka niehomogenizowanego wystąpiły w mniejszym zakresie. Na barwę mleka wpływa szereg czynników, do których należą m.in. rasa krów i ich zmienność genetyczna, okres laktacji, sposób żywienia, stan wymion, a nawet pora dojenia [19, 20]. Scarso i wsp. [19] odnotowali średnie wielkości składowych barwy mleka:  $L^* = 81,60$ ,  $a^* = -3,88$  i  $b^* = 8,04$ , przy średnim udziale: 3,71 % białka, w tym 2,81 % kazeiny, 4,61 % tłuszcza, 4,76 % laktozy.

Próbki mleka przed homogenizacją wykazywały zbliżone wartości pH (6,74  $\div$  6,64). Skrzep kwasowy bezpośrednio przed wykonaniem testu kompresji również wykazywał zbliżoną kwasowość czynną (w przedziale 4,61  $\div$  4,58).

Wyniki analizy tekstuury badanych skrzepów przedstawiono w tab. 4. Twardość, czyli siła jaką należy przyłożyć, aby uzyskać określona deformację skrzepu, kształtowała się w zakresie średnich wartości 0,43  $\div$  0,49 N. Wartości konsystencji, czyli stopnia twardości (zwartości) skrzepu, kształtowały się w badanych próbkach w zakresie 4,38  $\div$  4,76 N·s. Te dwa wyróżniki są szczególnie ważne ze względu na zabiegi technologiczne w produkcji serów, np. krojenia skrzepu. Spoistość wyraża stopień, do ja-

kiego można odkształcić daną substancję, aby jej nie złamać (jest to cecha wyrażająca wielkość wiązań sił wewnętrznych utrzymujących daną substancję jako całość). Indeks lepkości charakteryzuje płynność produktu pod wpływem przyłożonej siły. Średnia wartość spoistości próbek wynosiła -0,06 N, natomiast indeksu lepkości -0,04  $\div$  -0,05 N·s. Siemianowski i wsp. [18] badali te same parametry tekstury w skrzepie kwasowym, który został uzyskany z mleka pasteryzowanego oraz w skrzepie, który został uzyskany z mleka mikrofiltrowanego. Określili, że średnia twardość skrzepu z mleka pasteryzowanego wynosiła 0,95 N, a skrzepu z mleka mikrofiltrowanego – 0,78 N, konsystencja wynosiła odpowiednio: 13,46 i 10,92 N·s, spoistość – 0,23 i 0,17 N, natomiast indeks lepkości – 0,26 i 0,16 N·s. Mulawka i wsp. [11] oceniali teksturę twarogów bezpośrednio po produkcji i otrzymali średnie wyniki twardości w zakresie 0,30  $\div$  0,48 N. Skrzepy kwasowe w badaniach własnych charakteryzowały się porównywalną twardością do skrzepów uzyskanych przez Mulawkę i wsp. [11], natomiast mniejszą twardością, konsystencją, spoistością i lepkością do skrzepów otrzymanych przez Siemianowskiego i wsp. [18]. W badaniach Siemianowskiego i wsp. [18] zwrócono uwagę na znaczenie zastosowania procesu pasteryzacji na zwiększenie wartości parametrów tekstury badanych skrzepów.

Tabela 4. Parametry tekstury skrzepu kwasowego

Table 4. Acid curd texture parameters

Próba Sample	Twardość Hardness [N]	Konsystencja Consistency [N·s]	Spoistość Cohesiveness [N]	Indeks lepkości Index of viscosity [N·s]
A	0,43 $\pm$ 0,04	4,38 $\pm$ 0,37	-0,06 $\pm$ 0,02	-0,04 $\pm$ 0,02
B	0,49 $\pm$ 0,05	4,76 $\pm$ 0,26	-0,06 $\pm$ 0,01	-0,04 $\pm$ 0,01
C	0,48 $\pm$ 0,08	4,73 $\pm$ 0,37	-0,06 $\pm$ 0,01	-0,05 $\pm$ 0,01
D	0,46 $\pm$ 0,05	4,47 $\pm$ 0,28	-0,06 $\pm$ 0,01	-0,04 $\pm$ 0,01
E	0,49 $\pm$ 0,05	4,56 $\pm$ 0,35	-0,06 $\pm$ 0,01	-0,04 $\pm$ 0,01
F	0,48 $\pm$ 0,06	4,49 $\pm$ 0,43	-0,06 $\pm$ 0,01	-0,04 $\pm$ 0,01
G	0,48 $\pm$ 0,03	4,57 $\pm$ 0,19	-0,06 $\pm$ 0,00	-0,04 $\pm$ 0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie  $\pm$  odchylenia standardowe / Table shows mean values  $\pm$  standard deviations. Objasnienia symboli jak pod tab. 2. / Meanings of symbols as in Tab. 2.

Zastosowanie homogenizacji mleka odtłuszczzonego wpłynęło w nieznacznym stopniu na zwiększenie zwięzłości skrzepu, jednak różnice te nie były statystycznie istotne. Nie odnotowano także statystycznie istotnych różnic między innymi parametrami tekstury uzyskanymi w wyniku koagulacji mleka niehomogenizowanego w stosunku do skrzepu z mleka homogenizowanego, co świadczy o braku istotnego statystycznie wpływu homogenizacji na wyniki tekstury badanych skrzepów kwasowych.

Niskie wartości twardości i konsystencji świadczą o otrzymaniu luźnego skrzepu w przypadku wszystkich badanych próbek.

Tabela 5. Podstawowy skład chemiczny mleka odtłuszczonego i serwatki  
Table 5. Basic chemical composition of skimmed milk and whey

Próba / Sample		Tłuszcz Fat [%]	Białko Protein [%]	Laktoza Lactose [%]	Sucha masa Dry mass [%]
Mleko odtłuszczone Skimmed milk		0,02 ± 0,00	3,84 ± 0,02	5,36 ± 0,01	9,67 ± 0,02
Serwatka Whey	A	0,02 ± 0,00	1,01 ± 0,06	5,96 ± 0,00	7,47 ± 0,07
	B	0,02 ± 0,00	1,01 ± 0,03	5,95 ± 0,06	7,48 ± 0,06
	C	0,02 ± 0,00	0,99 ± 0,05	5,84 ± 0,08	7,31 ± 0,15
	D	0,02 ± 0,00	1,01 ± 0,01	5,86 ± 0,01	7,36 ± 0,04
	E	0,02 ± 0,00	1,05 ± 0,02	6,01 ± 0,08	7,56 ± 0,13
	F	0,02 ± 0,00	1,03 ± 0,04	5,96 ± 0,14	7,46 ± 0,17
	G	0,02 ± 0,00	1,01 ± 0,01	5,90 ± 0,01	7,39 ± 0,02

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

Podczas oceny przejścia składników mleka odtłuszczonego do serwatki (tab. 5) nie stwierdzono statystyczne istotnych różnic między oznaczonymi wartościami charakteryzującymi analizowane próbki. Maksymalne średnie różnice zawartości białka, laktozy i suchej masy w próbkach serwatki wyniosły odpowiednio 0,06 %, 0,17 % i 0,25 %, natomiast w przypadku zawartości tłuszczy nie stwierdzono różnic.

## Wnioski

- Uzyskano istotne zmniejszenie rozmiaru cząstek homogenizowanego mleka odtłuszczonego przy zastosowaniu ciśnienia homogenizacji powyżej 200 bar, zarówno w przypadku homogenizacji jedno-, jak i dwustopniowej.
- Nie stwierdzono wpływu homogenizacji jednostopniowej mleka odtłuszczonego na różnice barwy. Homogenizacja dwustopniowa miała istotny wpływ na wzrost wartości parametrów barwy mleka odtłuszczonego, takich jak: parametr  $b^*$ , wskaźnik żółtości, nasycenie oraz różnica tonu i barwy. Nie wykazano jednoznacznego wpływu ciśnienia homogenizacji na jasność i indeks oddalenia od bieli w badanym mleku.
- Nie wykazano istotnego wpływu homogenizacji mleka odtłuszczonego na zawartość składników suchej substancji w serwacie kwasowej, który mógłby świadczyć o zatrzymaniu składników suchej substancji mleka w skrzepie kwasowym, a także na parametry tekstury skrzepu kwasowego. Wynika z tego, że wpływ homogenizacji na wielkość cząstek nie znajduje odzwierciedlenia w zróżnicowaniu tekstury skrzepu oraz w składzie serwatki.

4. Zastosowanie homogenizacji nie zakłóca przebiegu procesu produkcji serów twarogowych odtłuszczonych i pozwala w efekcie otrzymać produkt o teksturze skrzepu i retencji w nim składników nieróżniący się od wyrobu otrzymanego z mleka odtłuszczonego niehomogenizowanego.

## Literatura

- [1] Abd El-Gawad M.A.M., Ahmed N.S.: Cheese yield as affected by some parameters. Review. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2001, 10 (2), 131-153.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Topyła B.: Technological usefulness of milk of cows of six breeds maintained in Poland relative to a lactation phase. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, 15 (56), SI 1, 17-21.
- [3] Bylund G.: Cheese. In: *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund 1995, pp. 287-330.
- [4] CIE Technical report. Colorimetry. 3rd ed. Commission Internationale de L'Eclairage, Vienna 2004, pp. 16-20.
- [5] Dumay E., Chevalier-Lucia D., Picart-Palmade L., Benzaria A., Gracia-Julia A., Blayo C.: Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenization. *Trends Food Sci. Technol.*, 2013, 31 (1), 13-26.
- [6] Ganju S., Gogate P.R.: A review on approaches for efficient recovery of whey proteins from dairy industry effluents. *J. Food Eng.*, 2017, 215, 84-96.
- [7] ISO 13320:2020. Particle size analysis. Laser diffraction methods.
- [8] Konica Minolta: Precise color communication. Color control from perception to instrumentation. [on line]. Dostęp w Internecie [19.04.2021]: [https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color\\_communication.pdf](https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf)
- [9] Logan A., Day L., Pin A., Auldist M., Leis A., Puvanenthiran A., Augustin M.A.: Interactive effects of milk fat globule and casein micelle size on the renneting properties of milk. *Food Bioprocess Technol.*, 2014, 7, 3175-3185.
- [10] Malvern Instruments: Mastersizer 3000 User Manual. Malvern Instruments Ltd., Malvern, United Kingdom, 2013.
- [11] Mulawka E., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A., Godula K.: Rodzaj kultury starterowej a wybrane cechy fizykochemiczne sera twarogowego w czasie przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2019, 1 (118), 95-110.
- [12] Pathare P.B., Opara U.L., Al-Said F.A.: Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technol.*, 2013, 6 (1), 36-60.
- [13] Pereda J., Ferragut V., Quevedo J.M., Guamis B., Trujillo A.J.: Heat damage evaluation in ultra-high pressure homogenized milk. *Food Hydrocoll.*, 2009, 23, 1974-1979.
- [14] Reps A., Wiśniewska K., Bohdziewicz K.: Sery podpuszczkowe, twarogowe i topione. W: *Produkty mleczne. Technologia i rola w żywieniu człowieka*. Red. J. Gawęcki, J. Pikul. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań, 2018, ss. 135-142.
- [15] Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczegółowe przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego. Dz. U. L 139, ss. 55-205, z 30.04.2004.
- [16] Sandra S., Dalgleish D.G.: Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *Int. Dairy J.*, 2005, 15, 1095-1104.

- [17] Serra M., Trujillo A.J., Jaramillo P.D., Guamis B., Ferragut V.: Ultra-High Pressure homogenization-induced changes in skim milk: Impact on acid coagulation properties. *J. Dairy Res.*, 2008, 75, 69-75.
- [18] Siemianowski K., Lis A., Bohdzieiewicz K., Szpendowski J.: Porównanie wybranych cech tekstury skrzepu kwasowego otrzymanego z mleka pasteryzowanego i mleka mikrofiltrowanego. *Nauki Inżynierskie i Technologie*, 2015, 3 (18), 56-63.
- [19] Scarso S., McParland S., Visentin G., Berry D.P., McDermott A., De Marchi M.: Genetic and nongenetic factors associated with milk color in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2017, 100, 7345-7361.
- [20] Walker G.P., Wijesundera C., Dunshea F.R., Doyle P.T.: Seasonal and stage of lactation effects on milk fat composition in northern Victoria. *Anim. Prod. Sci.*, 2013, 53, 560-572.
- [21] Wrolstad R.E., Smith D.E.: Color Analysis. In: *Food Analysis*. Ed. S.S. Nielsen. Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 2010, pp. 575-586.

#### **EFFECT OF HOMOGENISATION ON SELECTED PARAMETERS OF SKIMMED MILK, ACID CURD AND ACID WHEY**

##### **S u m m a r y**

Under the research study, there was determined the impact of single- (200, 500, 1000 and 2000 bar) and double-stage (200/100 and 500/250 bar) homogenisation on some selected properties of pasteurized skimmed milk, acid curd made from this milk with the use of milk fermentation bacteria and the effect of homogenisation on the transfer of components of milk dry matter to whey. No statistically significant changes ( $p > 0.05$ ) were reported in the size of total particles of skimmed milk as a result of single-stage homogenisation at a pressure of 200 bar, while in the case of double-stage homogenisation at 200/100 bar there was found a significant increase in their size ( $p \leq 0.05$ ). A significant reduction in the size of particles was the result of both the single- and the double-stage homogenisation at a pressure  $> 200$  bar. The presence of large particles defined by  $d_{v90}$  and  $d_{43}$  diameters in skimmed milk was probably caused by the impact of preliminary technological processes on the milk components (centrifugation, pasteurization); the application of homogenisation pressure  $> 200$  bar caused their elimination. It was reported that the double-stage homogenisation impacted changes in the following colour parameters of skimmed milk: parameter  $b^*$ , yellowness index, saturation and the difference in total colour and hue. In the milk tested, there was shown no clear-cut impact of homogenisation pressure on the brightness and the whiteness index. The homogenisation of skimmed milk (regardless of the homogenisation pressures applied) did not cause the components of milk dry matter to retain in the acid curd and did not impact its firmness. This is confirmed by the results of the compression test of the examined curd: hardness (0,43 ÷ 0,49 N) and consistency (4,38 ÷ 4,76 N·s), and the composition of whey (fat, protein, lactose, dry matter). The use of homogenisation does not interfere with the production process of skimmed curd cheeses and it makes it possible to get a product with a curd texture and ingredients retained therein that do not differ from those contained in the curd produced from a non-homogenised skimmed milk.

**Key words:** skimmed milk, homogenisation, particle size, colour, acid curd, texture 

DAMIR MOGUT, ANNA IWANIAK, MAŁGORZATA DAREWICZ

**ZASTOSOWANIE ANALIZY GŁÓWNYCH SKŁADOWYCH DO BADANIA  
ZALEŻNOŚCI MIĘDZY STRUKTURĄ A AKTYWNOŚCIĄ  
PRZECIWUTLENIAJĄCĄ DIPEPTYDÓW POCHODZĄCYCH  
Z BIAŁEK ŻYWNOŚCI**

**S t r e s z c z e n i e**

W pracy zastosowano model statystyczny utworzony za pomocą analizy głównych składowych (PCA) do określenia wpływu struktury dipeptydów na ich aktywność przeciwwutleniającą. Sekwencje 47 peptydów pobrano z bazy danych sekwencji białek i bioaktywnych peptydów BIOPEP-UWM (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>). Wybrane deskryptory (inaczej atrybuty) opisujące właściwości fizykochemiczne aminokwasów wchodzących w skład dipeptydów były wyrażone liczbowo i zaimplementowane z ogólnodostępnych programów lub baz danych: Peptide Property Calculator, Biological Magnetic Resonance Data Bank, ProtScale, Molar Polarizability Values oraz ImMunoGeneTics. PCA wykonano za pomocą programu Statistica. Liczbę składowych głównych istotnych w interpretacji wpływu struktury dipeptydów na ich aktywność przeciwwutleniającą określono na podstawie procentowego wyjaśnienia ogółu wariancji. Wynosił on 79,9 %, co odpowiadało czterem składowym. Pierwsza i czwarta składowa decydowały o wpływie aminokwasu N-końcowego na aktywność przeciwwutleniającą dipeptydu, natomiast druga i trzecia dotyczyły wpływu reszty C-końcowej. Za pomocą PCA wykazano, że modelowy peptyd o aktywności przeciwwutleniającej powinien charakteryzować się obecnością N-końcowego aminokwasu cyklicznego lub aromatycznego albo reszty aminokwasu z apolarnym łańcuchem bocznym. C-koniec peptydu powinien być zbudowany z proliny, histydyny, leucyny czy waliny. Uzyskane wyniki są zgodne z rezultatami literaturowymi dotyczącymi badań na temat zależności między strukturą a aktywnością przeciwwutleniającą peptydów, oszacowanymi metodą regresji wielorakiej. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zastosowana metoda chemometryczna może być przydatna w projektowaniu peptydów pochodzących z żywności, w tym o badanej aktywności.

**Ślówka kluczowe:** aktywność przeciwwutleniająca, dipeptydy, baza danych BIOPEP-UWM, chemometria, PCA

---

*Dr inż. D. Mogut, prof. dr hab. inż. A. Iwaniak, prof. dr hab. inż. M. Darewicz, Katedra Biochemii Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Cieszyński 1, 10-719 Olsztyn. Kontakt: damir.mogut@uwm.edu.pl*

## Wprowadzenie

Białka żywności pełnią w organizmie wiele funkcji, m.in. enzymatyczną, budulcową, immunologiczną [18], a także mogą być źródłem peptydów o wielu aktywnościach biologicznych [12], w tym przeciwyutleniającej [32]. Według dostępnej literatury źródłem peptydów o aktywności przeciwyutleniającej są m.in. białka ryżu, soi, słonecznika, gryki czy kukurydzy, a także pochodzenia zwierzęcego, w tym jaja kurzego, wielu ryb i owoców morza czy fermentowanych produktów mlecznych [25].

Bez względu na rodzaj aktywności biologicznej, jaką charakteryzują się peptydy pochodzące z białek żywności, istnieją trzy kierunki badawcze ich analizy [8]. Pierwszy nazywany jest kierunkiem klasycznym i obejmuje takie etapy, jak: wybór materiału do badań (białka), jego hydrolizę enzymatyczną, oznaczenie aktywności hydrolizatu oraz identyfikację peptydów za pomocą spektrometrii mas. Drugi kierunek, bioinformatyczny, wspomaga badania eksperymentalne i jest związany ze stosowaniem metod *in silico* w przewidywaniu właściwości peptydów, symulowaniu hydrolizy białek czy badaniu zależności aktywności biologicznej peptydów od ich struktury. Kierunek ten jest ściśle powiązany z tworzeniem oraz wykorzystywaniem baz danych, w tym baz danych peptydów bioaktywnych [30]. Trzeci kierunek to tzw. analiza hybrydowa (pojęcie zintegrowane), która jest połączeniem obu ww. kierunków [8].

Badania nad zależnością między strukturą peptydów a ich aktywnością biologiczną w obrębie kierunku bioinformatycznego są ściśle powiązane z analizą chemometryczną. Wówczas zasoby bioinformatycznych baz danych służą do tworzenia własnych zbiorów danych, które są następnie analizowane za pomocą metod chemometrycznych, wywodzących się z technik analizy statystycznej [11]. Zaliczana jest do nich m.in. analiza głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis*, PCA) [28]. Metoda ta została zastosowana do badania zależności „struktura-aktywność” (ang. *structure-activity relationship*, SAR) inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę (tzw. inhibitorów ACE; EC 3.4.15.1) [27], inhibitorów dipeptydopeptydazy IV (EC 3.4.14.5) [16] czy peptydów o smaku gorzkim [10]. W literaturze przedmiotu nie ma natomiast wielu danych na temat zastosowania ww. metod w analizie zależności między strukturą a aktywnością peptydów o aktywności przeciwyutleniającej. Przeszukiwanie bazy NCBI (tj. *National Centre for Biotechnology Information*; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; dostęp: kwiecień 2021) za pomocą słów kluczowych „QSAR antioxidant peptides” umożliwiło wykazanie 1922 rekordów, w tym 1165 rekordów z ostatnich 5 lat. W jednej z publikacji podjęto próbę analizy peptydów przeciwyutleniających pochodzących z hydrolizatów białek metodą najmniejszych cząstkowych kwadratów (ang. *Partial Least Squares*, PLS) [31]. Za celowe uznano więc zastosowanie PCA do badania wpływu struktury peptydów na ich aktywność przeciwyutleniającą. Wśród analizowanych tytułów oraz treści streszczeń rekordów dostępnych w NCBI żaden nie dotyczył zastosowania tej metody w odniesieniu do badań poświęconych ww. zagadnieniu.

Celem pracy było określenie zależności między strukturą a aktywnością dipeptydów o aktywności przeciwwutleniającej za pomocą analizy głównych składowych.

### Material i metody badań

Informacje dotyczące sekwencji 47 dipeptydów o aktywności przeciwwutleniającej pobrano z bazy danych BIOPEP-UWM (dostęp: kwiecień 2021) oraz z literatury (tab. 1). Dane dotyczące źródła pochodzenia analizowanych peptydów, potwierzonej aktywności czy cytowanej literatury są dostępne w BIOPEP-UWM po kliknięciu w link, będący jednocześnie numerem adresyjnym sekwencji peptydu w bazie danych (BIOPEP-UWM ID) [20].

Tabela 1. Wykaz sekwencji dipeptydów o aktywności przeciwwutleniającej pobranych z bazy danych BIOPEP-UWM oraz z literatury

Table 1. List of antioxidative dipeptides' sequences acquired from BIOPEP-UWM database and reference literature

Sekwencja Sequence	BIOPEP-UWM ID	Sekwencja Sequence	Literatura References
Leu-His	3305	Ala-Ala	[1]
His-Leu	3317	Gly-Gly	[1]
His-His	3319	His-Glu	[1]
Ala-Tyr	7866	His-Phe	[1]
Leu-Tyr	7872	His-Ile	[1]
Ile-Tyr	7873	His-Lys	[1]
Ala-His	7886	His-Ser	[1]
Glu-Leu	7888	Trp-Glu	[1]
Trp-Tyr	7898	Trp-Phe	[1]
Met-Tyr	8090	Trp-Ile	[1]
Lys-Asp	8134	Trp-Lys	[1]
Pro-Trp	8190	Trp-Ser	[1]
Arg-Trp	8214	Trp-Trp	[1]
Ile-Arg	8215	Trp-Pro	[17]
Leu-Lys	8217	Ala-Leu	[22]
Lys-Pro	8218	Glu-Lys	[22]
Thr-Tyr	8219	Phe-Leu	[22]
Val-Tyr	8224	Gly-Leu	[22]
Thr-Trp	8459	Ser-Phe	[22]
Ala-Trp	8460	Ser-Leu	[22]
Val-Trp	8461	Val-Ala	[22]
Leu-Trp	8462	Trp-Val	[22]
Trp-Gly	9082	-	-
Met-Met	9086	-	-
Phe-Cys	9342	-	-

Zmiennymi opisującymi właściwości dipeptydów (tzw. deskryptorami) były wyrażone liczbowo atrybuty przypisane aminokwasom wchodzący w skład peptydu. Pobrano je z następujących baz i/lub programów komputerowych:

- a) AAIndex ([www.genome.jp/aaindex](http://www.genome.jp/aaindex)) – [15],
- b) Peptide Property Calculator ([biotools.nubic.northwestern.edu/proteinCalc.html](http://biotools.nubic.northwestern.edu/proteinCalc.html)),
- c) Biological Magnetic Resonance Data Bank ([www.bmrb.wisc.edu/ref\\_info/aadata.dat](http://www.bmrb.wisc.edu/ref_info/aadata.dat)) – [5],
- d) ProtScale ([web.expasy.org/protscale](http://web.expasy.org/protscale)) – [6],
- e) Molar Polarizability Values – Brigham Young University ([bio.groups.et.byu.net/Molar\\_Polarizability\\_alpha.phtml](http://bio.groups.et.byu.net/Molar_Polarizability_alpha.phtml)),
- f) ImMunoGeneTics ([imgt.org/IMGTeducation/Aide-memoire/\\_UK/aminoacids/abbreviation.html](http://imgt.org/IMGTeducation/Aide-memoire/_UK/aminoacids/abbreviation.html)).

Atrybutami były: masa cząsteczkowa (M) [b], liczba atomów węgla (C) [c], sferyczność (S) [a], polarność (P) [a], polaryzowalność (POL) [e], tęgość (T) [a], rozmiar (R) [a], hydrofobowość według Kyte'a-Doolittle'a (H) [f], skłonność do formowania helisy (SFH) [a], powierzchnia reszt aminokwasowych ukrytych dla rozpuszczalnika (%PR) [a], prawdopodobieństwo występowania danego aminokwasu w białku (WAK) [d]. W nawiasach okrągłych podano symbole zmiennych, jakimi się posługiwano tworząc macierz danych, zaś w nawiasach kwadratowych pochodzenie zmiennych (tj. jeden z zastosowanych wyżej programów bądź baz komputerowych). W celu odróżnienia zmiennych charakteryzujących C- lub N-końcowe aminokwasy do każdego symbolu dodano oznakowanie „P1” lub „P2”. Przykładowo zmienną o symbolu M P1 należy rozumieć jako masę cząsteczkową aminokwasu N-końcowego, a M P2 – C-końcowego badanego peptydu. Łącznie uzyskano 22 zmienne, po 11 dla każdego aminokwasu wchodzącego w skład dipeptydu.

Przed przystąpieniem do analizy PCA jej zasadność w odniesieniu do utworzonej macierzy danych sprawdzono za pomocą testu KMO (Kaiser-Meyer-Olkin). Jego wynik może przyjmować wartości od 0 do 1, a wartość KMO powyżej 0,50 uzasadnia słuszność zastosowanej metody analizy danych [10]. Ponadto przeprowadzono test sferyczności Bartletta. Pierwszy test miał na celu wskazanie prawidłowości (lub nieprawidłowości) zastosowanej analizy chemometrycznej do badania peptydów o aktywności przeciwtleniającej, natomiast drugi decydował o przyjęciu/odrzuceniu hipotezy o istnieniu właściwości wywierających wpływ na aktywność badanych sekwencji. Analizę wykonano za pomocą programu Statistica 10 [10].

Do wykonania analizy PCA zastosowano moduł analityczny o nazwie „Wielowymiarowe techniki eksploracyjne” z pakietu Statistica 10. Po wybraniu polecenia „Analiza składowych głównych i klasyfikacja” otrzymywano wyniki w postaci kart zapisu (raportów). Raporty zawierały informacje o ładunkach czynnikowych oraz wartościach własnych, wyrażanych zarówno liczbowo, jak i graficznie. Ładunki czynni-

kowe są to korelacje między składowymi (im wyższa wartość ładunku, tym bardziej jest skorelowana z daną składową). Wartość własna określa natomiast udział procentowy w wyjaśnianiu wpływu poszczególnych składowych [28].

### Wyniki i dyskusja

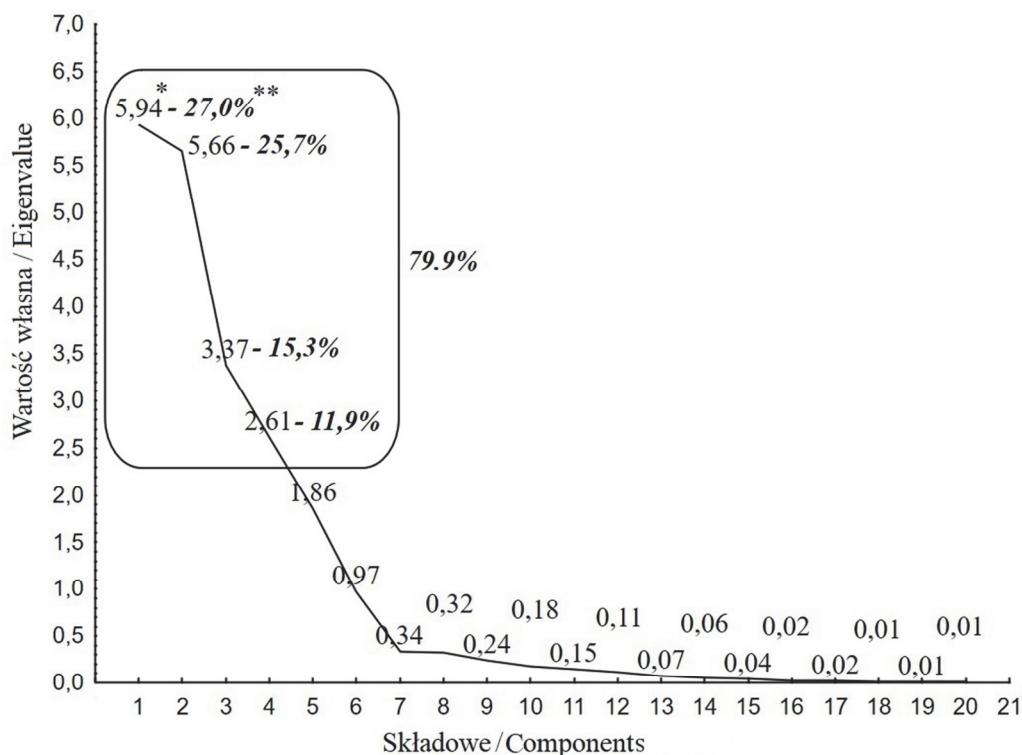
Metody chemometryczne, jak np. analiza składowych głównych, są wciąż przydatne w badaniu cech peptydów istotnych dla ich aktywności biologicznej. Przedstawiona procedura badawcza (konstruowanie modelu na podstawie informacji dostępnych w bazach danych i innych repozytoriach) może służyć badaniu peptydów o innych aktywnościach biologicznych. Została ona zaproponowana po raz pierwszy przez Iwaniak i wsp. [9, 10] do badania zależności między strukturą a gorzkim smakiem peptydów, a następnie wykorzystana przez innych autorów do badania zależności strukturalnych w odniesieniu do peptydowych inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV (peptydów antydiabetycznych) [16].

PCA jest najstarszą oraz najlepiej poznaną metodą chemometryczną [10]. Jednym z najważniejszych i najtrudniejszych aspektów stosowania tej metody jest wyszczególnienie liczby składowych pomocnych we wskazaniu zależności między strukturą a funkcją peptydów [10]. Ponadto PCA często jest metodą uzupełniającą badanie zbiorów danych (macierzy) analizowanych za pomocą innych metod chemometrycznych. Wynika to z tego, że w niektórych przypadkach PCA pozwala na „natychmiastowe” wskazanie większej liczby atrybutów strukturalnych wpływających na funkcję biologiczną peptydów niż regresja wieloraka (ang. *multivariate linear regression*, MLR). Przykładem są badania Iwaniak i wsp. [10], w których, w wyniku PCA di- oraz tripeptydów o smaku gorzkim, wskazano więcej deskryptorów decydujących o tym wrażeniu smakowym niż w przypadku zastosowania MLR [9].

Jednym z wyzwań w tworzeniu macierzy danych PCA jest stosunek liczby obiektów (peptydów) do liczby zmiennych. Najczęściej przyjmowana jest wartość 5 : 1, przy czym Shaukat i wsp. [26] postulują, by minimalna liczba obiektów wynosiła 100. Ze względu na specyfikę badań przyrodniczych pozyskiwanie do badań chemometrycznych danych na temat określonych grup związków może być trudne [26], również w odniesieniu do peptydów o aktywności przeciwtleniającej, dlatego niektórzy autorzy postulują przyjęcie liczby obiektów do liczby zmiennych w proporcji 2 : 1, a badania symulacyjne dotyczące „idealnej liczby obiektów” w analizie wielu zmiennych wykazały, że trafne rezultaty otrzymywano już przy 19 obiektach [26]. W związku z powyższym 47 obiektów (dipeptydów o aktywności przeciwtleniającej) uznano za liczbę wystarczającą do przeprowadzenia PCA.

Testy KMO (ang. KMO value = 0,674) oraz sferyczności Bartletta ( $\chi^2 = 654,87$ ) określone dla macierzy dipeptydów oraz p wynoszące 0,05 (dane niezamieszczone) dały podstawę do przyjęcia hipotezy alternatywnej, tj. istnienia wpływu określonych

właściwości na aktywność przeciwtleniającą dipeptydów i kontynuowania badań. Na podstawie wyników PCA wykazano, że pierwsze cztery składowe wyjaśniały 79,9 % ogółu całkowitej wariancji i według przyjętych kryteriów zasobu zmienności uznano je za najważniejsze w wyjaśnieniu ich wpływu na aktywność przeciwtleniającą dipeptydów (rys. 1).



Objaśnienia / Explanatory notes:

(\*) – czcionka zwykła – wartość własna / normal font – eigenvalue; (\*\*) – pogrubiona kursywa – procent wyjaśnienia ogółu wariancji / bold and italic font – percent of cumulative variance explanation.

Rys. 1. Wykres Cattella przedstawiający istotną liczbę składowych decydujących o aktywności dipeptydów przeciwtleniających

Fig. 1. Cattell's plot showing the number of significant components deciding about the antioxidative activity of dipeptides

Znaczenie czterech składowych jako istotnych w wyjaśnieniu cech struktury decydujących o aktywności przeciwtleniającej dipeptydów zostało również potwierdzone analizą uwzględniającą rotację Varimax znormalizowaną (tab. 2).

Tabela 2. Wytypowane główne składowe wraz ze zmiennymi (z rotacją Varimax znormalizowaną)  
 Table 2. Selected principal components including variables (with standardised Varimax rotation)

Składowa 1 Component 1	Składowa 2 Component 2	Składowa 3 Component 3	Składowa 4 Component 4
(+) M P1	(+) M P2	(-) P P2	(-) P P1
(+) C P1	(+) C P2	(+) T P2	(+) T P1
(+) POL P1	(+) POL P2	(+) H P2	(+) H P1
(+) R P1	(+) R P2	-	-
(-) %PR P1	(-) PR P2	-	-
(-) WAK P1	(-) WAK P2	-	-

Objaśnienia / Explanatory notes:

Objaśnienia skrótów podano w rozdziale „Materiał i metody badań“ / Abbreviations are explained in chapter „Materiał i metody badań“; (+) – korelacja dodatnia / positive correlation; (-) – korelacja ujemna / negative correlation.

Pierwszą składową tworzyły atrybuty dotyczące właściwości reszt N-końcowej dipeptydu, czyli: masa cząsteczkowa (+0,98, M P1), liczba atomów węgla (+0,91, C P1), polaryzowalność (+0,98, POL P1), rozmiar (+0,91, R P1), powierzchnia reszt ukrytych dla roztworu (-0,82, %PR P1) oraz prawdopodobieństwo występowania danego aminokwasu w białku (-0,88, WAK P1). W nawiasach podano wartości korelacji między zmiennymi tworzącymi składowe. Składową drugą tworzyły identyczne zmienne wraz z identycznymi tendencjami i charakteryzowały one właściwości aminokwasu

C-końcowego dipeptydu. W skład trzeciej składowej wchodziły zmienne opisujące aminokwas C-końcowy, tj. polarność – korelacja ujemna (-0,87), tęgość oraz hydrofobowość – korelacje dodatnie (+0,78 oraz +0,91). Te same zmienne o identycznym kierunku korelacji, czyli P (-0,90), T (+0,77) oraz H (+0,86) definiowały właściwości aminokwasu N-końcowego i stanowiły czwartą składową.

Zmienne, takie jak powierzchnia reszt ukrytych dla roztworu danego aminokwasu w białku, są atrybutami stosowanymi do opisu właściwości fizykochemicznych białek [3, 14]. Z kolei skłonność do formowania helisy może służyć opisowi właściwości zarówno peptydów, jak i białek [23]. Według Kajandera i wsp. [14] powierzchnia reszt ukrytych dla roztworu wzrasta wraz ze wzrostem rozmiaru białka. Badania PCA dipeptydów o aktywności przeciwlultańskiej nie potwierdziły tej tendencji. Może to oznaczać, że zmienna ta nie powinna być stosowana do opisu właściwości peptydów lub analizowane peptydy charakteryzowały się zbyt krótkim łańcuchem do stosowania tej zmiennej w konstruowaniu modelu macierzy (ang. *input matrix*).

Prawdopodobieństwo występowania danego aminokwasu w białku jest parametrem często stosowanym do tworzenia algorytmów w celu przewidywania tendencji

białka do krystalizowania, przypisywania białka do klasy strukturalnej [2], czy stabilności białek [7]. Skład aminokwasowy białka jest istotnie związany z hydrofobowością. Białka hydrofilowe nie mogą formować hydrofobowego rdzenia typowego dla białek globularnych i nie wykazują tendencji do fałdowania, ponieważ ich wolna energia wewnętrzna jest niewystarczająca, by kompensować straty entropii niezbędnej w procesie fałdowania [3].

Interpretując uzyskane wyniki w odniesieniu do aminokwasów tworzących badane dipeptydy można stwierdzić, że składały się one przeważnie z N-końcowych aminokwasów zawierających hydrofobowy pierścień aromatyczny (Trp, Phe) lub apolarny łańcuch boczny (Leu, Ile, Ala). W przypadku C-końca dominowały reszty o bardziej zróżnicowanej budowie. Poza wyżej wymienionymi, niektóre z dipeptydów zawierały C-końcowe reszty cysteiny, metioniny czy seryny. Wyniki te są zbieżne z uzyskanymi przez Udenigwe i Aluko [31], którzy zastosowali regresję wieloraką w analizie peptydów o aktywności przeciwitleniającej pozyskanych z różnych hydrolizatów białek żywności. Wymienieni autorzy wykazali, że zależnie od przeprowadzonego testu, obecność w sekwencjach peptydów określonych aminokwasów pozytywnie lub negatywnie przyczyniała się do efektu antyoksydacyjnego analizowanych peptydów, co jest wynikiem działania różnych mechanizmów tworzenia reaktywnych form tlenu [31]. Niemniej na podstawie uzyskanych wyników, dotyczących prawdopodobieństwa występowania danego aminokwasu w białku w powiązaniu z hydrofobowością oraz budową dipeptydów o aktywności przeciwitleniającej, wymienione zmienne można stosować w analizie chemometrycznej peptydów.

Poza doborem zmiennych tworzenie macierzy danych do konstruowania modeli wyjaśniających ilościową zależność między strukturą a aktywnością peptydów (ang. *quantitative structure-activity relationship*, QSAR) wymaga zastosowania miary aktywności, co nie jest wymagane do wykonania PCA [10, 11]. W celu przeprowadzenia PCA za informację wystarczającą do tworzenia macierzy danych przyjęto adnotację o wykazywaniu przez peptydy aktywności przeciwitleniającej. Z przeglądu literatury wynika, że do chwili obecnej nie ma znormalizowanej metody określania aktywności przeciwitleniającej związków żywności i dlatego zalecane jest, by oznaczenia prowadzić za pomocą testów bazujących na różnych mechanizmach opisujących efekt antyoksydacyjny związku [4]. Aktywność peptydu jest wyrażana w różny sposób i może pochodzić z różnych eksperymentów prowadzonych różnymi metodami, co odgrywa szczególną rolę w badaniach QSAR [21] i ma wpływ na miarodajność tworzonych modeli oraz uzyskanych wyników [24]. Niemniej tworzenie przez naukowców nowych narzędzi bio- oraz chemoinformatycznych sprzyja analizie zagadnień związanych m.in. z aktywnością biologiczną peptydów. Narzędzia te przyczyniają się do pogłębiania wiedzy na temat właściwości biologicznych oraz funkcjonalnych składników żywności, takich jak: skład aminokwasowy białka i występujących w nich peptydów, właści-

wości fizykochemiczne aminokwasów tworzących peptydy czy charakterystyka protein uwalniających biopeptydy [8]. Stosując wymienione narzędzia, należy mieć na uwadze, że jakość uzyskanych wyników zależy od poprawności skonstruowanego modelu, na co wpływ mają dane wejściowe [19]. Mimo wskazanych ograniczeń metod *in silico*, ich stosowanie może być przydatne w projektowaniu peptydów pochodzących z żywności, odgrywających ważną rolę w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. Do takich peptydów można również zaliczyć sekwencje o działaniu przeciutleniającym.

Reasumując, można powiedzieć, że mimo przedstawionych ograniczeń uzyskane wyniki z wykorzystaniem PCA pozwalają na zaobserwowanie pewnych prawidłowości między strukturą a aktywnością przeciutleniającą badanych dipeptydów. Jak uważa Tu [29], nie istnieje idealna metoda analizy chemometrycznej związków chemicznych, ale uzyskane wyniki, jak i zastosowana metoda, mogą przyczynić się do pogłębienia wiedzy na temat badania wpływu struktury na aktywność przeciutleniającą peptydów. Jest to zgodne z postulatami naukowców rekomendujących stosowanie różnych metod chemometrycznych do badania określonego zjawiska.

## Wnioski

1. Bez względu na lokalizację reszt w sekwencji dypeptydu (tj. N- lub C-koniec), można stwierdzić, że na ich aktywność przeciutleniającą miały wpływ następujące właściwości aminokwasów: masa cząsteczkowa (+), liczba atomów węgla (+), polaryzowalność (+), rozmiar (+), polarność (-), powierzchnia reszt ukrytych dla roztworu (-) czy prawdopodobieństwo występowania danego aminokwasu w białku (-). Były one skorelowane dodatnio (+) lub ujemnie (-).
2. Modelowy dypeptyd przeciutleniający spełniający powyższe warunki powinien zawierać reszty takich aminokwasów jak: Pro, His, Leu oraz/lub Val.
3. Wykazano, że zmienne stosowane do przewidywania właściwości białek, czyli powierzchnia reszt ukrytych dla roztworu oraz prawdopodobieństwo występowania danego aminokwasu w białku można stosować do badań zależności „struktura-aktywność przeciutleniająca” dypeptydów.
4. Mimo pewnych ograniczeń metod *in silico*, ich stosowanie może być przydatne w projektowaniu peptydów pochodzących z żywności, odgrywających ważną rolę w profilaktyce chorób cywilizacyjnych m.in. peptydów o działaniu przeciutleniającym.

*Projekt finansowany w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą "Regionalna Inicjatywa Doskonałości" w latach 2019-2022, nr projektu 010/RID/2018/19, kwota finansowania 12.000.000 złotych oraz funduszu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, nr tematu: 17.610.014-110.*

Autorzy dziękują dr inż. Monice Hrynkiewicz za pomoc w tworzeniu macierzy danych oraz wskazówki dotyczące interpretacji wyników

### Literatura

- [1] Canabady-Rochelle L.L.S., Harscoat-Schiavo C., Kessler V., Aymes A., Fournier F., Girardet J.-M.: Determination of reducing power and metal chelating ability of antioxidant peptides: Revisited methods. *Food Chem.*, 2015, 183, 129-135.
- [2] Carugo O.: Amino acid composition and protein dimension. *Protein Science*, 2008, 17 (12), 2187-2191.
- [3] Deiana A., Shimizu K., Giansanti A.: Amino acid composition and thermal stability of protein structures: The free energy geography of the Protein Data Bank. [on line]. 2010. Dostęp w Internecie [6.08.2020]: <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1012/1012.5916.pdf>
- [4] Di Bernardini R., Harnedy P., Bolton D., Kerry J., O'Neill E., Mullen A.M., Hayes M.: Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chem.*, 2011, 124, 1296-1307.
- [5] Ellinger J.J., Chylla R.A., Ulrich E.L., Markley J.L.: Databases and software for NMR-based metabolomics. *Curr. Metabolomics*, 2013, 1, 28-40.
- [6] Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., Duvaud S., Wilkins M.R., Appel R.D., Bairoch A.: Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In: *The proteomics protocols handbook*. Ed. J.M. Walker. Humana Press, Totowa 2005, pp. 571-607.
- [7] Hormoz S.: Amino acid composition of proteins reduces deleterious impact of mutations. *Sci. Rep.*, 2013, 3, #2919.
- [8] Iwaniak A., Darewicz M., Mogut D., Minkiewicz P.: Elucidation of the role of in silico methodologies in approaches to studying bioactive peptides derived from foods. *J. Funct. Foods*, 2019, 61, #103486.
- [9] Iwaniak A., Hrynkiewicz M., Bucholska J., Minkiewicz P., Darewicz M.: Understanding the nature of bitter-taste di- and tripeptides derived from food proteins based on chemometric analysis. *J. Food Biochem.*, 2019, 43 (1), #e12500.
- [10] Iwaniak A., Hrynkiewicz M., Bucholska J., Darewicz M., Minkiewicz P.: Structural characteristics of food protein-originating di- and tripeptides using principal component analysis. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244 (10), 1751-1758.
- [11] Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M., Protasiewicz M., Mogut D.: Chemometrics and cheminformatics in the analysis of biologically active peptides from food sources. *J. Funct. Foods*, 2015, 16, 334-351.
- [12] Iwaniak A., Dziuba J.: Bioaktywne sekwencje w białkach żywności. W: Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności. Red. J. Dziuba, Ł. Fornal. WNT, Warszawa 2009, ss. 176-270.
- [13] Jolliffe I.T.: Principal Component Analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Springer, New York City 2002.
- [14] Kajander T., Kahn P.C., Passila S.H., Cohen D.C., Lehtio L., Adolfsen W., Warwicker J., Schell U., Goldman A.: Buried charges surface in a protein. *Structure*, 2000, 8 (11), 1203-1214.
- [15] Kawashima S., Ogata H., Kanehisa M.: AAindex: Amino acid index database. *Nucleic Acids Res.*, 1999, 27, 368-369.
- [16] Kęska P., Stadnik J.: Structure - activity relationships study on biological activity of peptides as dipeptidyl peptidase IV inhibitors by chemometric modeling. *Chem. Biol. Drug.*, 2020, 95, 291-301.
- [17] Kleekayai T., Harnedy P.A., O'Keeffe M.B., Poyarkov A.A., CunhaNeves A., Suntornsuk W., Fitzgerald R.J.: Extraction of antioxidant and ACE inhibitory peptides from Thai traditional fermented shrimp pastes. *Food Chem.*, 2015, 176, 441-447.

- [18] Kostyra H., Kostyra E.: Bioaktywne peptydy uwalniane z białek żywności. W: *Żywność prozdrowotna*. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2014, ss. 235-249.
- [19] Li-Chan E.C.Y.: Bioactive peptides and protein hydrolysates: Research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Curr. Opin. Food Sci.*, 2015, 1, 28-37.
- [20] Minkiewicz P., Iwaniak A., Darewicz M.: BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20 (23), #5978.
- [21] Mooney C., Haslam N.J., Pollastri G., Shields D.C.: Towards the improved discovery and design of functional peptides: Common features of diverse classes permit generalized prediction of bioactivity. *PLoS One*, 2012, 7 (10), #e45012.
- [22] Nongonierma A.B., FitzGerald R.J.: Dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidative properties of milk protein-derived dipeptides and hydrolysates. *Peptides*, 2013, 39, 157-163.
- [23] Pace C.N., Scholtz J.M.: A helix propensity scale based on experimental studies of peptides and proteins. *Biophys. J.*, 1998, 75 (1), 422-427.
- [24] Pripp A.H., Isaksson T., Stepaniak L., Sørhaug T., Ardö Y.: Quantitative structure activity relationship modelling of peptides and proteins as a tool in food science. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 16 (11), 484-494.
- [25] Sarmadi B.H., Ismail A.: Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 2010, 31, 1949-1956.
- [26] Shaukat S.S., Rao T.A., Khan M.A.: Impact of sample size on principal component analysis ordination of an environmental data set: Effects on eigenstructure. *Ekológia (Bratislava)*, 2016, 35 (2), 173-190.
- [27] Shu M., Mei H., Liao L., Li Z.: Structural parameter characterization and bioactivity simulation based on peptide sequence. *QSAR Combinatorial Sci.*, 2009, 28 (1), 27-35.
- [28] Stanisz A.: Analiza składowych głównych. Analiza czynnikowa. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem Statistica PL na przykładach z medycyny. Analizy wielowymiarowe. T. 3. StatSoft Polska, Kraków 2007, ss. 165-267.
- [29] Tu J.V.: Advantages and disadvantages of using artificial neural networks versus logistic regression for predicting medicinal outcomes. *J. Clin. Epidemi.*, 1996, 49, 1225-1231.
- [30] Udenigwe C.C.: Bioinformatic approaches, prospects and challenges of food bioactive peptide research. *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, 36, 137-143.
- [31] Udenigwe C.C., Aluko R.: Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food hydrolysates. *Int. J. Mol. Sci.*, 2011, 12, 3148-3161.
- [32] Zou T.-B., He T.-P., Li H.-B., Tang H.-W., Xia E.-Q.: The structure-activity of the antioxidant peptides from natural proteins. *Molecules*, 2016, 21(1), #72.

**APPLICATION OF PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS TO STUDY RELATIONSHIP  
BETWEEN STRUCTURE AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF DIPEPTIDES DERIVED  
FROM FOOD PROTEINS**

S u m m a r y

In the research study, there was applied a statistical model developed with the use of Principal Component Analysis (PCA) for the purpose of determining the impact of dipeptides' structure on their antioxidant bioactivity. Sequences of 47 peptides were taken from a BIOPEP-UWM database of proteins and bioactive peptides (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>). The selected descriptors (also called attributes) to describe the physicochemical properties of amino acids present in a dipeptide chain were

numerically expressed and implemented from open-access computer software or databases such as: Peptide Property Calculator, Biological Magnetic Resonance Data Bank, ProtScale, Molar Polarizability Values and ImMunoGeneTics. PCA was carried out using a Statistica software. The number of principal components that were significant for the interpretation of the impact of dipeptides' structure on their anti-oxidant activity was determined based on the percentage of cumulative variance. It was 79.9 % and it was in line with the four components. The first and the fourth component determined the impact of N-terminal amino acid residue on the antioxidant activity of dipeptide, whereas the second and the third one referred to the effect of C-terminal amino acid residue. By means of PCA it was shown that a model dipeptide possessing antioxidant activity should be characterised by the presence of N-terminal amino acid with a cyclic or aromatic ring or amino acid residue with a non-polar side chain. The C-end of peptide should be composed of proline, histidine, leucine or valine. The results obtained are consistent with the reference literature data that refer to the research on relationship between structure and activity of antioxidative peptides, assessed using a multivariate regression analysis. Based on the research study performed, it was found that the chemometric method applied might be useful when designing food-derived peptides, including those possessing the activity studied.

**Key words:** antioxidant activity, dipeptides, BIOPEP-UWM database, chemometrics, PCA 

MACIEJ ŚWITALSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MAGDALENA KAMIŃSKA

## **OCENA WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH HANDLOWYCH ODŻYWEK BIAŁKOWYCH**

### S t r e s z c z e n i e

Celem pracy była ocena właściwości fizykochemicznych handlowych odżywek białkowych w proszku. Materiał doświadczalny stanowiły 4 preparaty w formie proszku: izolat białek sojowych, koncentrat białek serwatkowych, białko konopi oraz koncentrat białka grochu. Zakres badań obejmował oznaczanie zawartości i aktywności wody, kąta nasypu i zsypu, gęstości luźnej i utrzesionej, barwy, właściwości rekonstruktorskiej oraz sorpcyjnych wybranych preparatów, m.in. powierzchni właściwej sorpcji i pojemności warstwy monomolekularnej.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że oceniane produkty charakteryzowały się różnym poziomem zawartości i aktywności wody, determinowanym składem surowcowym preparatu białkowego w proszku. Najwyższe wartości tych parametrów zaobserwowano w białku konopnym oraz w koncentracie białek grochu. Na podstawie oceny gęstości nasypowej luźnej i utrzesionej oraz kąta nasypu stwierdzono, że proszki badanych białek cechowała średnia kohezyjność oraz zróżnicowana sypkość. Bardziej korzystnymi właściwościami fizykochemicznymi charakteryzowała się produkty pochodzenia roślinnego. Pomiar kąta zsypu pozwolił na stwierdzenie zależności pomiędzy stosowaną powierzchnią pomiaru a sypkością badanego białka w proszku. Dowiedzono, że największą trwałośćą przechowalniczą charakteryzowało się białko serwatkowe, natomiast najniższymi wartościami  $V_m$  i powierzchni właściwej sorpcji – białko konopne. Powyższe badania pozwoliły określić trwałość przechowalniczą preparatów handlowych białek w proszku produkowanych przemysłowo oraz ocenić ich wstępную przydatność w operacjach manipulacyjnych lub przeładunkowych.

**Słowa kluczowe:** białko sojowe, białko serwatkowe, białko konopi, zawartość wody, aktywność wody, gęstość nasypowa luźna i utrzesiona, kąt nasypu, kąt zsypu, sypkość, kohezyjność, barwa

### **Wprowadzenie**

Preparaty białkowe są przykładem produktów w proszku, które charakteryzują się dużą wartością odżywczą. Produkty te cechuje zwykle znacząca zawartość protein bogatych w niezbędne aminokwasy oraz niewielka ilość substancji przeciwdodzyw-

---

*Mgr inż. M. Świtalski, dr hab. inż. M. Ruszkowska, prof. UMG, inż. M. Kamińska, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia. Kontakt: Maciej.switalski@sd.umg.edu.pl*

czych [9]. Do preparatów stosowanych w żywieniu sportowców, które są szeroko omówione w literaturze naukowej, zalicza się odżywki wyprodukowane z soi i mleka krowiego [28]. Ze względu jednak na wpływ soi na bioróżnorodność ekosystemów, obawy konsumentów przed żywnością zmodyfikowaną genetycznie, znaczącą ilość gazów cieplarnianych powstających podczas hodowli bydła, zwiększający się odsetek sportowców stosujących dietę wegańską czy alergenność soi i produktów mlecznych poszukuje się innych źródeł białka do produkcji izolatów, hydrolizatów i koncentratów białkowych [3, 8, 11]. Wśród możliwości wymienia się niekonwencjonalne źródła białka, tj. surowce bogate w białko stosowane tylko w bardzo ograniczonym zakresie, do których, oprócz owadów, białek organizmów jednokomórkowych, zaliczyć można rzadziej stosowane i w mniejszym zakresie zbadane nasiona zbóż, roślin strączkowych i oleistycznych, m.in. ryżu, grochu i konopi siewnych [3, 6, 11, 27].

Celem pracy była ocena wybranych właściwości fizykochemicznych preparatów białkowych w proszku.

### **Material i metody badań**

Materiał badany stanowiły 4 rodzaje preparatów białkowych, wśród których trzy produkty to odżywki pochodzenia roślinnego, a jeden – produkt pochodzenia zwierzęcego. Preparaty zakupiono w jednej z sieci supermarketów na terenie Gdyni. Opakowania jednostkowe zawierały od 500 do 700 g produktu. Produkty oznaczono cyframi rzymskimi od I do IV, a nazwy oraz ich skład przedstawiono w tab. 1.

Badane produkty cechowały się odmiennym składem (tab. 1). Odżywki białkowe II oraz III w przeciwnieństwie do pozostałych preparatów charakteryzowały się obecnością jednego głównego składnika – koncentratu białek serwatkowych i białka z konopi siewnych. Produkt I stanowił preparat fortyfikowany witaminami, natomiast produkt IV stanowił mieszankę różnych źródeł białka i zawierał najwięcej składników dodatkowych. Różnice występowały również w deklarowanej przez producenta zawartości składników odżywczych (tab. 2).

Z deklaracji producenta wynika, że produkt I (izolat białek sojowych) charakteryzował się najwyższą wartością energetyczną oraz najmniejszą zawartością tłuszcza i węglowodanów (tab. 2). Produkt I zawierał również najwięcej soli. Produkty II, III i IV charakteryzowały się zbliżoną zawartością tłuszcza ( $7,0 \div 9,5$  g). Wśród preparatów zaobserwowano zróżnicowaną zawartość węglowodanów ( $6,0 \div 20,0$  g) oraz błonnika ( $0,0 \div 19,0$  g). Do preparatów najbogatszych w białko zaliczono odżywki I i II.

Ocenę preparatów prowadzono w warunkach laboratoryjnych. Oznaczenia miały na celu określenie jakości preparatów na podstawie ich właściwości fizykochemicznych [5].

Tabela 1. Skład badanych preparatów białkowych

Table 1. Composition of protein preparations tested

Kod Code	Nazwa produktu Product name	Marka Brand	Skład badanych produktów / Composition of products tested
I	Izolat białek sojowych w proszku 85 Sojavit Soy Powdered soy protein isolate 85 Sojavit Soy	Olimp	99-procentowy izolat białka sojowego / 99 % soy protein isolate, 0,46 % lecytyna sojowa / 0.46 % soy lecithin, acesulfam K / acesulfame K, 0,03 % sukraloza / 0.03 % sucralose, kwas L-askorbinowy / L-ascorbic acid, octan DL-alfa-tokoferylu / DL-alpha-tocopheryl acetate, amid kwasu nikotynowego / nicotinic acid amide, D-biotyna / D-biotin, octan retinylu / retinyl acetate, D-pantotenian wapnia / calcium D-pantothenate, chlorowodorek pirydoksyny / pyridoxine hydrochloride, cholekalcyferol / cholecalciferol, kwas pteroilomonoglutaminowy / pteroylmonoglutamic acid, monoazotan tiaminy / thiamine mononitrate, ryboflawina / riboflavin, cyjanokobalamina / cyanocobalamin, 0,03 % L-winian L-karnityny / 0.03 % L-carnitine L-tartrate
II	Koncentrat białek serwatkowych w proszku WPC 100 % / Powdered whey protein concentrate WPC 100 %	Olimp	100-procentowy koncentrat białek serwatkowych (z mleka) / 100 % whey protein concentrate (from milk), zawiera lecytyny (z soi) / contains lecithin (from soy)
III	Białko konopne w proszku Powdered hemp protein	My Vita	100 % białko z konopi siewnych ( <i>Cannabis sativa</i> ) / 100 % hemp protein ( <i>Cannabis sativa</i> )
IV	Wegański koncentrat białka grochu o smaku waniliowym Vegan vanilla-flavoured pea protein concentrate	All-nutrition	koncentrat białka grochu / pea protein concentrate, koncentrat białka ryżu / rice protein concentrate, koncentrat białka migdałowego / almond protein concentrate, koncentrat białka konopnego / hemp protein concentrate, nieutwardzony olej kokosowy w proszku / powdered non hydrogenated coconut oil, karboksymetylceluloza / carboxymethyl cellulose, guma ksantanowa / xanthan gum, aromaty / aromatics, sukraloza / sucralose, acesulfam K / acesulfame K, dwutlenek krzemu / silicon dioxide, beta karoten / beta carotene

Źródło / Source: informacje zawarte na opakowaniu jednostkowym / information labelled on unit package

Pierwszymi oznaczanymi parametrami były gęstość nasypowa luźna i utrzesiona [1, 23], na podstawie których określano współczynnik Hausnera (1) i indeks Carra (2). Oznaczenia wykonano w 3 powtórzeniach.

Tabela 2. Wartość odżywcza badanych preparatów białkowych

Table 2. Nutritional value of protein preparations tested

Informacja o wartości odżywczej Information on nutritional value [w 100 g produktu] / [per 100 g of product]	Kod preparatu / Code of preparation			
	I	II	III	IV
Wartość energetyczna Energy value [kJ/kcal]	1632/390	1651/395	1687/403,5	1749/418
Tłuszcze / Fat [g]: w tym kwasy tłuszczone nasycone including saturated fatty acids [g]	3 0,3	7,0 4,2	9,5 1,0	8,0 1,0
Węglowodany / Carbohydrates [g]: w tym cukry / including sugars [g]	1 < 0,5	6,0 6,0	20,0 1,0	15,0 b.d
Błonnik / Fibre [g]	0	0	19,0	4,0
Białko / Protein [g]	85,0	77,0	50,0	72,0
Sól / Salt [g]	3,5	0,42	0,2	0,25

Źródło / Source: informacje zawarte na opakowaniu jednostkowym / information labelled on unit package

Współczynnik Hausnera (HR) obliczano z równania [23]:

$$I_H = \frac{\rho_T}{\rho_L} \quad (1)$$

gdzie:

$\rho_T$  – gęstość nasypowa utrzesiona [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ],

$\rho_L$  – gęstość nasypowa luźna [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ].

Indeks Carra (Ic) obliczano z równania:

$$I_C = \frac{\rho_T - \rho_L}{\rho_T} \cdot 100 \quad (2)$$

Metodyka badań obejmowała również określenie kąta zsypu i nasypu. Kąt krytyczny (zsypu) oznaczano metodą pochylonej powierzchni przy użyciu urządzenia pomiarowego z 3 rodzajami płyt: metalową, szklaną i chropowatą. Oznaczenie polegało na naważeniu stałej objętości produktu i określaniu momentu, w którym produkt zaczyna zsypywać się z powierzchni [4, 25, 29].

Kąt nasypu oznaczano poprzez swobodne przesypywanie produktu przez lejek o średnicy 5 mm i stworzenie stożka o wysokości ok. 35 cm [23, 29]. Oznaczanie zarówno kąta zsypu, jak i nasypu każdego produktu wykonano w 4 powtórzeniach

Kąt nasypu obliczano z równania [23, 29]:

$$K.N. = \arctan\left(\frac{2h}{d-a}\right) \quad (3)$$

gdzie:

$K.N.$  – kąt nasypu [ $^{\circ}$ ],

$h$  – wysokość stożka utworzonego przez produkt [mm],

$d$  – średnica podstawy stożka [mm],

$a$  – średnica wewnętrzna szyjki lejka [mm].

Właściwości rekonstrukturyjne proszków określano na podstawie pomiaru zwilżalności. Czas przejścia do fazy ciekłej proszków określano w temp. 25 i 85 °C. Oznaczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

Pomiar barwy preparatów białkowych w proszku wykonywano przy użyciu kolorymetru Konica-Minolta CR 400 (Konica-Minolta, Japonia). Barwę oznaczano w systemie CIE Lab, w którym składowymi były parametry:  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Parametr pierwszy określa jasność ( $L^*$ ), przy czym wartość 0 oznacza barwę czarną, natomiast 100 – bielą. Parametry ( $a^*$ ) oraz ( $b^*$ ) opisują odpowiednio: barwę zieloną do czerwonej oraz niebieską do żółtej i przyjmują wartości w zakresie -120 ÷ 120 [26].

Do oceny wielkości różnicy barw zastosowano równanie:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (4)$$

W opracowaniu wyników badań przyjęto założenie, według którego bezwzględne różnice barw ( $\Delta E^*$ ) pomiędzy 0 i 1 są nieroznawalne, 1 ÷ 2 charakteryzuje niewielkie odchylenie rozpoznawalne przez osobę doświadczoną, między 2,0 ÷ 3,5 obserwuje się średnie odchylenie rozpoznawalne nawet przez osobę postronną, 3,5 ÷ 5,0 widoczne jest wyraźne odchylenie. Natomiast wartość  $\Delta E^*$  powyżej 5 oznacza duże odchylenie barwy.

Zawartość wody oznaczano metodą suszarkową. Produkty poddawano suszniu w temp. 105 °C [21, 23]. Ocenę aktywności wody odżywek białkowych wykonywano metodą instrumentalną przy użyciu urządzenia AquaLab 4TE, wersja AS4 2,14.0 2017 (Decagon Devices, Inc., USA) z dokładnością  $\pm 0,0003$ , w temp. 293 K (20 °C)  $\pm 2,5$  K.

Ocenę właściwości sorpcyjnych prowadzono metodą statyczno-eksykatorową poprzez wyznaczanie izoterm sorpcji pary wodnej na podstawie ustalonej w ciągu 60 dni równowagi wilgotnościowej pomiędzy atmosferą o określonej wilgotności względnej, regulowanej za pomocą nasyconych roztworów soli, a badaną próbką. Wyznaczanie izoterm sorpcji wykonywano w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07 \div 0,98$  w temp. 20

$\pm 1$  °C. Na podstawie początkowej masy produktu oraz zmian zawartości wody obliczano równowagowe zawartości wody i wykreślano izotermy sorpcji.

Do opisu empirycznie wyznaczanych izoterm sorpcji stosowano równania Brunauera, Emmeta i Telleta (BET) w zakresie aktywności wody  $0,07 \leq a_w \leq 0,33$ . Równanie scharakteryzowano na podstawie wartości współczynnika determinacji ( $R^2$ ), dopasowania błędu standardowego (FitStdErr) oraz wartość statystyki F [15, 19, 20]:

$$a = \frac{V_m c a_w}{(1 - a_w)[1 + (c - 1)a_w]} \quad (5)$$

gdzie:

$a_w$  – aktywność wody [-],

$V$  – równowagowa zawartość wody [g H<sub>2</sub>O/100 g s.m.],

$V_m$  – zawartość wody w monowarstwie [g H<sub>2</sub>O/100 g s.m.],

$C$  – stała energetyczna.

Powierzchnię właściwą adsorbentu obliczano z równania [15, 17, 20]:

$$a_{sp} = \omega \frac{V_m}{M} N \quad (6)$$

gdzie:

$a_{sp}$  – powierzchnia właściwa sorpcji [m<sup>2</sup>/g s.m.],

$v_m$  – pojemność monowarstwy [g /100 g s.m.],

$N$  – liczba Avogadra, [częst./mol],

$M$  – masa cząsteczkowa wody, [ $6,023 \cdot 10^{23}$  cząsteczka/mol],

$\omega$  – powierzchnia siadania wody, [ $\omega = 1,05 \cdot 10^{-19} \cdot m^2/\text{częst.}$ ].

Do opracowania statystycznego, jak i matematycznego uzyskanych wyników w pracy użyto programów komputerowych z pakietu arkusza kalkulacyjnego Microsoft Office Excel, Jandel-Table Curve 2D v. 5.01, PQStat 1.8.0.476, i Statistica 12. Analizę wariancji i test post-hoc Tukeya przeprowadzono przy użyciu PQStat 1.8.0.476.

## Wyniki i dyskusja

Zawartość i aktywność wody stanowią istotne parametry w charakterystyce właściwości fizykochemicznych, a przede wszystkim sorpcyjnych, pozwalają bowiem określić szybkość przebiegu reakcji fizycznych, chemicznych oraz biochemicalnych [22]. Stwierdzono, że wśród badanych preparatów największą zawartością wody charakteryzował się produkt IV, natomiast najmniejszą – produkty I i II (tab. 3). Najniższą aktywnością wody charakteryzował się produkt II. Prawdopodobnie ze względu na różny stopień związania wody z matrycą produktu najwyższą aktywnością wody ce-

chował się produkt III. W przypadku zawartości i aktywności wody stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy wszystkimi badanymi produktami z wyłączeniem produktu I i II w zakresie zawartości wody. Można przypuszczać, że ze względu na zależność między zawartością wody a zdolnością płynięcia proszków, tj. zmniejszaniem się sypkości wraz ze wzrostem wilgotności produktu, najmniejszą sypkością powinny charakteryzować się produkty III oraz IV [13].

Tabela 3. Właściwości fizykochemiczne preparatów białkowych  
Table 3. Physicochemical properties of protein preparations

Parametr Parameter	Kod preparatu / Code of preparation			
	I	II	III	IV
Zawartość wody / Water content [g/100 g s.m. / d.m.]	3,88 ± 0,10	3,77 ± 0,06	5,42 ± 0,02	5,89 ± 0,04
Aktywność wody Water activity	0,1562 ± 0,0017	0,1378 ± 0,0014	0,3822 ± 0,0018	0,3182 ± 0,0018
Gęstość luźna Untapped density [g/cm <sup>3</sup> ]	0,3637 ± 0,0066	0,2885 ± 0,0024	0,469 ± 0,0125	0,3929 ± 0,0209
Gęstość utrzesiona Tapped density [g/cm <sup>3</sup> ]	0,4259 ± 0,0160	0,3774 ± 0,071	0,5717 ± 0,0163	0,4547 ± 0,0103
Współczynnik Hausnera Hausner ratio	1,17 ± 0,03	1,31 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,16 ± 0,04
Indeks Carra / Carr index	14,56 ± 1,98	23,56 ± 0,95	17,97 ± 1,21	13,62 ± 3,29
Kąt nasypu Static angle of repose [°]	34,81 ± 1,08	40,58 ± 0,86	36,97 ± 0,24	39,89 ± 0,57
Kąt zsypu – powierzchnia metalowa / Dynamic angle of repose – metal surface [°]	30,75 ± 0,96	32,75 ± 0,96	27,25 ± 2,50	36,25 ± 4,65
Kąt zsypu – powierzchnia szklana / Dynamic angle of repose – glass surface [°]	53,50 ± 17,14	41,25 ± 3,40	34,50 ± 0,58	58,00 ± 4,32
Kąt zsypu – powierzchnia chropowata / Dynamic angle of repose – rough surface [°]	92,75 ± 2,06	44,25 ± 2,22	43,00 ± 2,83	55,50 ± 2,52
Barwa – parametr L* Colour – parameter L*	82,71 ± 0,02	86,97 ± 0,03	57,07 ± 0,05	78,64 ± 0,01
Barwa – parametr a* Colour – parameter a*	-0,54 ± 0,03	-1,88 ± 0,01	0,14 ± 0,02	1,89 ± 0,02
Barwa – parametr b* Colour – parameter b*	19,00 ± 0,01	16,33 ± 0,02	18,12 ± 0,03	19,90 ± 0,01
Zwilżalność Wettability (85 °C) [s]	25,00 ± 3,00	9,00 ± 2,65	5,33 ± 0,58	12,00 ± 2,00
Zwilżalność Wettability (25 °C) [s]	11,33 ± 0,58	6,33 ± 0,58	5,33 ± 0,58	8,33 ± 0,58

Parametr Parameter	Różnica pomiędzy produktami / Difference between products					
	I v. II	I v. III	I v. IV	II v. III	II v. IV	III v. IV
Zawartość wody Water content	ns	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Aktywność wody Water activity	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Gęstość luźna Untapped density	p = 0,0004	p < 0,0001	ns	p < 0,0001	p < 0,0001	p = 0,0004
Gęstość utrzessiona Tapped density	p = 0,0081	p < 0,0001	ns	p < 0,0001	p = 0,0004	p < 0,0001
Współczynnik Hausnera Hausner ratio	p = 0,0031	ns	ns	ns	p = 0,0012	p = 0,0166
Indeks Carra / Carr index	p = 0,0058	ns	ns	ns	p = 0,0019	p = 0,0276
Kąt nasypu Static angle of repose	p < 0,0001	p = 0,0079	p = 0,00004	p = 0,0001	ns	p = 0,0007
Kąt zsypu – powierzchnia metalowa / Dynamic angle of repose – metal surface	ns	ns	ns	ns	ns	p = 0,0026
Kąt zsypu – powierzchnia szklana / Dynamic angle of repose – glass surface	ns	p = 0,0487	ns	ns	ns	p = 0,0142
Kąt zsypu – powierzchnia chropowata / Dynamic angle of repose – rough surface	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	ns	p = 0,0002	p < 0,0001
Barwa – parametr L* Colour – parameter L*	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Barwa – parametr a* Colour – parameter a*	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Barwa – parametr b* Colour – parameter b*	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Zwilżalność Wettability (85 °C)	p = 0,0002	p < 0,0001	p = 0,0005	ns	ns	p = 0,0279
Zwilżalność Wettability (25 °C)	p < 0,0001	p < 0,0001	p = 0,0010	ns	p = 0,0121	p = 0,0010

Objaśnienia / Explanatory notes:

ns – brak statystycznie istotnych różnic / no statistically significant differences. Wartości średnie różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$  / Mean values differ statistically significantly at  $p \leq 0,05$ .

W badanych preparatach oznaczono ponadto wartości parametrów gęstości nasypowej luźnej i utrzessionej, określające stosunek masy cząsteczek do ich objętości, łącznie z wolnymi przestrzeniami kolejno w proszku luźno nasypanym i poddanym operacjom mechanicznym. Znajomość parametrów gęstości nasypowej luźnej i utrzessonowej pozwala na odpowiednie zarządzanie produktem podczas operacji przeładunko-

wych i przechowywania [7]. Stwierdzono najniższe wartości ocenianych parametrów w preparacie II (tab. 3). Produkt ten charakteryzował się także najwyższym procentowym przyrostem gęstości pod wpływem zastosowanych operacji mechanicznych. Największą gęstością wśród badanych próbek odznaczał się preparat III. Wartości parametrów gęstości nasypowej luźnej i utrzesionej preparatów I i IV nie różniły się w sposób statystycznie istotny, natomiast pozostałe produkty charakteryzowały różnice statystycznie istotne.

Współczynnik Hausnera stanowi parametr określający spójność proszku. Wartość współczynnika Hausnera  $< 1,2$ ,  $1,2 \div 1,4$ ,  $> 1,4$  odpowiada kolejno niskiej, średniej i wysokiej kohezyjności produktu. Indeks Carra pozwala natomiast na określenie sypkości produktu – im niższa jest jego wartość, tym wyższa sypkość ocenianego produktu w proszku [24]. Na podstawie otrzymanych wartości współczynników stwierdzono, że najniższe wartości HR i  $I_C$  charakteryzowały preparat IV, a najwyższe – produkt II (tab. 3). Pod względem średnich wartości współczynnika Hausnera oraz indeksu Carra nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy preparatami: I i III, I i IV oraz II i III. Nie potwierdzono ich także w klasyfikacji sypkości i kohezyjności żywności w proszku, zaproponowanej przez Samborską i wsp. [24]. Zgodnie z tą klasyfikacją oceniane preparaty charakteryzowały się bardzo dobrą (produkt I i IV –  $I_C < 15$ ), dobrą (produkt III –  $I_C = 15 \div 20$ ) lub słabą sypkością (produkt II –  $I_C = 20 \div 35$ ). Natomiast wartość HR według ww. klasyfikacji wskazywała, że wszystkie badane preparaty cechowały się średnią kohezyjnością ( $HR = 1,2 \div 1,4$ ).

Na podstawie oceny wartości kąta zsypu i nasypu podjęto także próbę potwierdzenia zależności dotyczących kohezyjności i sypkości ocenianych proszków białkowych. Wielkości te określają zdolność materiału do płynięcia. Niska wartość kąta nasypu oraz wysoka wartość kąta zsypu charakterystyczna jest zwykle dla proszków wykazujących niewielką zdolność do płynięcia i wysoką kohezyjność [23]. W badanych preparatach wartość kąta nasypu wała się w granicach  $34 \div 40^\circ$ , co wskazywało na pewną kohezyjność produktów oraz ich dość dobrą (produkt I) lub dobrą (produkty II - IV) sypkość [2, 12]. Jednakże analiza statystyczna umożliwiła stwierdzenie, że spośród badanych próbek wyłącznie preparaty II i IV charakteryzowały się równą wartością kąta nasypu.

Stwierdzono istnienie zależności pomiędzy rodzajem powierzchni zsypu a sypkością proszku oraz brak statystycznie istotnych różnic pod względem wartości uzyskanego kąta zsypu z powierzchni metalowej między większością badanych preparatów (tab. 3).

Kąt zsypu preparatów z powierzchni metalowej obejmował przedział  $27,25 \div 36,25^\circ$ . Kąt zsypu z powierzchni szklanej obejmował szerszy zakres  $34,50 \div 58,00^\circ$ , co mogło być prawdopodobnie wynikiem odmiennej sypkości produktów (tab. 3). Pomimo szerokiego zakresu wartości kąta zsypu z tej powierzchni stwierdzono brak staty-

stycznie istotnych różnic między większością ocenianych produktów pod względem tego parametru. Najwyższe wartości kąta zsypu zaobserwowano natomiast po zastosowaniu powierzchni chropowatej. Preparaty badane z użyciem tej powierzchni cechowało występowanie statystycznie istotnych różnic, z wyłączeniem produktów II i III.

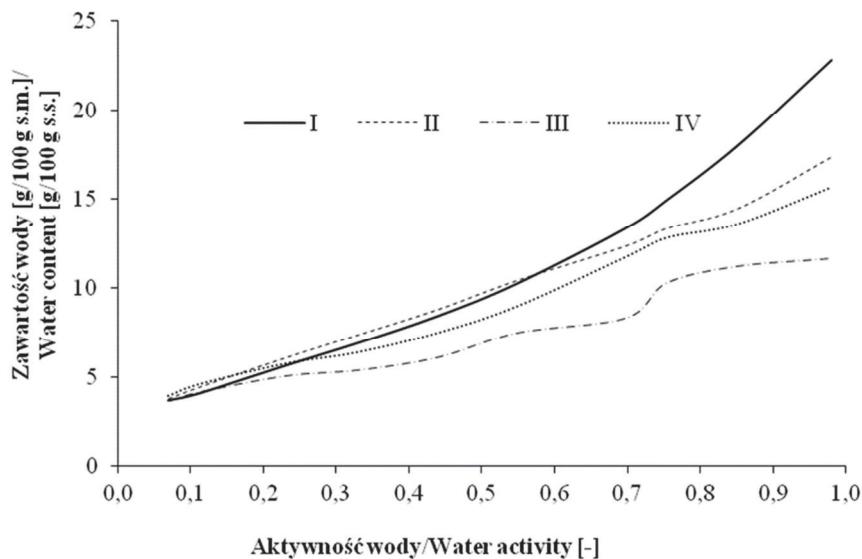
Na podstawie pomiaru składowych barwy stwierdzono, że wszystkie badane preparaty różniły się istotnie pod względem ocenianych parametrów (tab. 3). Produkt II charakteryzował się najjaśniejszą barwą ( $L^* = 86,97$ ), a najniższa wartość parametru  $L^*$  była cechą preparatu III ( $L^* = 57,07$ ). Najniższymi wartościami parametrów barwy  $a^*$  i  $b^*$  odznaczał się preparat II, a najwyższymi – IV (tab. 3). Wyjaśnienia obserwowanych różnic upatruje się w odmiennym składzie surowcowym odżywek białkowych. Potwierdzeniem tego jest obliczona wielkości  $\Delta E$ , określająca poziom różnicy barwy. Badane produkty charakteryzowały się wyraźną różnicą barwy ( $\Delta E < 3,5$ ), zauważalną nawet dla niedoświadczonego obserwatora [26].

Zbadano także zwilżalność określającą szybkość i stopień rozproszenia cząsteczek proszku badanych odżywek białkowych w wodzie [30]. Wykazano dłuższy czas przejścia proszku do fazy ciekłej w wyższej temperaturze (85 °C) – tab. 3. Najniższą zwilżalnością w obu założonych temperaturach, tym samym najdłuższym czasem zwilżania, charakteryzował się produkt I (25 s). Stwierdzono, że produkt I w temp. 85 °C nie wykazywał zwilżalności charakterystycznej dla żywności instant (< 15 s) [10]. Preparatami najlepiej zwilżalnymi były produkty III i II. Na podstawie wartości  $p$  nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem zwilżalności produktów II i III w obu temperaturach oraz preparatów II i IV w temp. 85 °C (tab. 3).

Kolejnym elementem badań była ocena właściwości sorpcyjnych produktów. Na rys. 1. przedstawiono izotermy sorpcji badanych preparatów. Izotermy charakteryzowały się kształtem sigmoidalnym, właściwym dla produktów bogatych w polimery o dużej masie cząsteczkowej, np. produktów wysokobiałkowych i wykazywały podobieństwo do izoterm typu II według klasyfikacji Brunauera i wsp. Wśród wszystkich izoterm sorpcji pary wodnej zaobserwowano ciągłość przebiegu, tym samym stwierdzono, że w preparatach nie zachodził proces krystalizacji w badanym zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07 \div 0,98$ .

Analiza przebiegu izoterm pozwoliła stwierdzić ponadto, że proces adsorpcji obserwowany był we wszystkich produktach w obszarze izoterm obejmującym zjawisko adsorpcji wielowarstwowej i kondensacji kapilarnej. Proces desorpcji charakteryzował produkty: I przy  $a_w = 0,07$ , III – w zakresie aktywności wody  $0,07 \div 0,33$  oraz IV – w zakresie aktywności wody  $0,07 \div 0,23$ . Wzrost intensywności zjawiska pochłaniania pary wodnej uzależniony od procesu kondensacji kapilarnej zaobserwowano w produkcie I przy  $a_w < 0,85$ .

W tab. 4. przedstawiono parametry równania BET oraz wartości powierzchni właściwej sorpcji.



Rys. 1. Izotermy sorpcji preparatów białkowych

Fig. 1. Sorption isotherms of protein preparations

Tabela 4. Parametry równania BET

Table 4. BET equation parameters

Parametry równania BET BET equation parameters	Kod preparatu / Code of preparation			
	I	II	III	IV
$v_m$	4,9856	5,3495	3,6973	4,4485
$c_e$	25,2292	24,3724	78,1673	80,2194
$R^2$	0,9979	0,9996	0,9944	0,9974
FitStdErr	0,1859	0,0885	0,2366	0,2366
Charakterystyka strukturalna preparatów / Structural profile of preparations				
Powierzchnia właściwa sorpcji Specific surface of sorption [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	175,1659	187,9493	129,903	156,2936

Parametr równania BET – pojemność monowarstwy ( $v_m$ ) służy do określania pojemności sorpcyjnej adsorbentów i traktowany jest jako wskaźnik dostępności miejsc polarnych dla pary wodnej niezależnie, który ze składników jest źródłem grup hydrofilowych. O pojemności monowarstwy decyduje liczba poszczególnych składników zawierających znaczną liczbę miejsc polarnych oraz ich stan fizyczny, co determinuje ilość wody silnie związanej z matrycją żywotności [16]. Na podstawie uzyskanych wartości pojemności monowarstwy ( $v_m$ ) zaobserwowano wpływ składu produktów na ich

właściwości sorpcyjne (tab. 2 i 4). Tendencja ta wystąpiła w przypadku preparatu III, który był bogaty w substancję hydrofobową – tłuszcz i charakteryzował się najniższą wartością pojemności warstwy monomolekularnej  $v_m$ . Najwyższą wartość warstwy monomolekularnej stwierdzono w preparacie II, pomimo mniejszej niż w produktach I i IV zawartości substancji hydrofilowych – białek, warunkujących dostępność miejsc polarnych dla pary wodnej. Stwierdzono, że największą trwałośćą przechowalniczą charakteryzował się produkt II o najwyższej wartości warstwy monomolekularnej. Znaczne rozwinięcie monowarstwy chroni bowiem produkt przed obniżeniem jakości w wyniku pochłaniania określonej ilości wody.

Za parametr odzwierciedlający różnicę pomiędzy entalpią desorpcji monowarstwy i entalpię parowania ciekłego adsorbentu uznaje się stałą energetyczną  $c_e$ . Wartości stałej energetycznej  $c_e$  wynoszące w przypadku badanych preparatów  $> 2$  potwierdziły sigmoidalny kształt izoterm sorpcji pary wodnej oraz wskazyły na fizyczny charakter procesu sorpcji [14, 18]. Zastosowany model BET dobrze opisywał izotermy sorpcji badanych preparatów – wartości współczynnika  $R^2$  wynosiły powyżej 0,95.

Oszacowane na podstawie modelu BET wartości pojemności monowarstwy  $v_m$  stanowiły podstawę do obliczenia powierzchni właściwej sorpcji. Stwierdzono, że preparat II charakteryzował się większą powierzchnią właściwą sorpcji w przeciwieństwie do produktu III, cechującego się jej najniższą wartością. Uwzględniając powyzszą właściwość oraz wielkość monowarstwy ( $v_m$ ), można przypuszczać, że produkt II będzie charakteryzował się wysoką trwałością i stabilnością przechowalniczą.

## Wnioski

1. Analiza właściwości fizykochemicznych odżywek białkowych na podstawie wartości HR i kąta nasypu umożliwiła wnioskowanie o średniej kohezyjności badanych odżywek białkowych.
2. Wartości kąta zsypu zróżnicowane były przez rodzaj zastosowanej powierzchni zsypu.
3. Nie zaobserwowano jednoznacznej zależności pomiędzy sypkością proszku, określoną na podstawie wartości  $I_C$ , a zawartością wody.
4. Izoterna sorpcji badanych preparatów wykazywała podobieństwo do izoterm typu II według klasyfikacji Brunauera i charakteryzowała się ciągłością przebiegu.
5. Porównanie produktu pochodzenia zwierzęcego z produktami roślinnymi wskazało na jego mniej korzystne właściwości fizykochemiczne, mogące powodować trudności przeładunkowe (wyższa kohezyjność, mniejsza sypkość). Produkt ten charakteryzowała jednak większa stabilność przechowalnicza.

*Źródło finansowania: Katedra Zarządzania Jakością UMG.*

## Literatura

- [1] Abdullah E.C., Geldart D.: The use of bulk density measurements as flowability indicators. *Powder Technology*, 1999, 102, 151-165.
- [2] Abdullah E.C., Salam A.M., Aziz A.R.: Cohesiveness and flowability properties of silica gel powder. *Physics International*, 2010, 1 (1), 16-21.
- [3] Bashi Z., McCullough R., Ong L., Ramirez M.: Alternative proteins: The race for market share is on. [on line] McKinsey Insights, 2019. Dostęp w Internecie [6.08.2020]: <https://www.mckinsey.com/industries/agriculture/our-insights/alternative-proteins-the-race-for-market-share-is-on>
- [4] Beakwi Al-Hashemi H.M., Al-Amoudi O.S.B.: A review on the angle of repose of granular materials. *Powder Technology*, 2018, 330, 397-417.
- [5] Bielawa A.: Postrzeganie i rozumienie jakości – przegląd definicji jakości. *Studia i Prace WNEiZ US*, 2011, 21, 143-152.
- [6] Bueshke M., Kulczyński B., Gramza-Michałowska A., Kubiak T.: Alternatywne źródła białka w żywieniu człowieka. *Zesz. Nauk. SGGW w Warszawie – Problemy Rolnictwa Światowego*, 2017, 17 (3), 49-59.
- [7] Darniadi S., Ho P., Murray B.S.: Comparison of blueberry powder produced via foam mat freeze drying versus spray-drying: Evaluation of foam and powder properties. *J. Sci. Food. Agric.*, 2018, 98 (5), 2002-2010.
- [8] Fearnside P.M.: Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil. *Environmental Conservation*, 2000, 28 (1), 23-38.
- [9] Gawęcki J.: Białka w żywności i żywieniu. Wyd. UE w Poznaniu, Poznań 2016.
- [10] Górska A., Szulc K., Ostrowska-Ligęza E., Wirkowska-Wojdyła M., Bryś J.: Wybrane właściwości fizyczne układów beta-laktoglobulina-palmitynian retynylu-trehalosa otrzymywanych w postaci proszków metodą suszenia rozpylowego i sublimacyjnego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2015, 48 (3), 334-339.
- [11] Ismail B.P., Senaratne-Lenagala L., Stube A., Brackenridge A.: Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 2020, 10 (4), 53-63.
- [12] Jedlińska A., Janiszewska E., Stasiak M., Witrowa-Rajchert D.: Właściwości fizyczne waniliowych aromatów proszkowych o zróżnicowanym składzie chemicznym części aromatycznej. *Nauki Inż. i Technol.*, 2013, 9 (2), 53-66.
- [13] Juarez-Enriquez E., Olivas G.I., Zamudio-Flores P.B., Ortega-Rivas E., Perez-Vega S., Sepulveda D.R.: Effect of water content on the flowability of hygroscopic powders. *J. Food Eng.*, 2017, 205, 12-17.
- [14] Mathlouthi M.: Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food Control*, 2001, 12, 409-417.
- [15] Ocieczek A., Pukszt T., Nebel J.: Wpływ stopnia rozdrobnienia pieprzu czarnego na jego higroskopijność badaną z wykorzystaniem wybranych modeli sorpcji. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni*, 2017, 99, 20-30.
- [16] Ocieczek A., Ruszkowska M.: Porównanie właściwości sorpcyjnych ziarna wybranych odmian komosy ryżowej (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2018, 3 (116), 71-88.
- [17] Ocieczek A., Skotnicka M.: Porównywanie właściwości grzybów suszonych w kontekście ich stabilności przechowalniczej. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2017, 98 (3), 296-301.
- [18] Ocieczek A.: Właściwości hydratacyjne jako wyróżnik jakości użytkowej mąk pszennych pasażowych. *Pr. Nauk. Akademii Morskiej*, Gdynia 2012.

- [19] Oćik J.: Adsorpcja. PWN, Warszawa 1983.
- [20] Paderewski M.: Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej. WNT, Warszawa 1999.
- [21] PN-A-86030:1978. Mleko i przetwory mleczarskie. Mleko w proszku. Metody badań.
- [22] Ruszkowska M., Palich P.: Ocena wybranych produktów mleczarskich w proszku. Inż. Ap. Chem., 2013, 52 (2), 83-85.
- [23] Ruszkowska M., Wiśniewska A.: Ocena wybranych napojów roślinnych w proszku – charakterystyka właściwości fizykochemicznych. Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni, 2017, 99, 103-113.
- [24] Samborska K., Choromańska A., Witrowa-Rajchert D., Bakier S: Suszenie rozpyłowe miodu pszczelego z maltodekstryną. Inżynieria Żywności, 2011, 21 (1), 19-23.
- [25] Singh K.K., Goswami T.K.: Physical properties of cumin seed. J. Agric. Eng. Res., 1996, 64 (2), 93-98.
- [26] Śmiechowska M., Kłobukowski F.: Ocena barwy odtłuszczonej i nieodtluszczonej proszków kakaowych – badania wstępne. Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni, 2016, 93, 134-140.
- [27] Wang S., Kreuzer M., Braun U., Schwarm A.: Effect of unconventional oilseeds (safflower, poppy, hemp, camelina) on *in vitro* ruminal methane production and fermentation. J. Sci. Food. Agric., 2017, 97 (11), 3864-3870.
- [28] Wróblewska B., Juśkiewicz J., Kroplewski B., Jurgoński A., Wasilewska E., Złotkowska D., Mankiewicz L.: The effects of whey and soy proteins on growth performance, gastrointestinal digestion, and selected physiological responses in rats. Food Funct., 2018, 9, 1500-1509.
- [29] Zawiślak K., Sobczak P.: Zmiany wybranych właściwości fizycznych granulatu uzyskanego z dodatkiem różnych substancji wiążących. Inżynieria Rolnicza, 2007, 11 (5), 437-444.
- [30] Źbikowska A., Źbikowski Z.: Wpływ temperatury i twardości wody na stopień odtworzenia mleka z odtłuszczonego proszku mlecznego. Inż. Ap. Chem., 2011, 50 (6), 20-22.

#### EVALUATION OF SELECTED PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF COMMERCIAL PROTEIN SUPPLEMENTS

##### S u m m a r y

The objective of the research study was to evaluate the physicochemical properties of commercial powdered protein supplements. The research material consisted of 4 powdered preparations: soy protein isolate, whey protein concentrate, hemp protein and pea protein concentrate. The research scope included the determination of water content and water activity, static and dynamic angle of repose, loose and tapped density, colour, and reconstitution and sorption properties of the selected preparations, including specific sorption surface and capacity of the monomolecular layer.

On the basis of the analyses performed, it was found that the products under evaluation were characterised by a different level of water content and water activity, dependent on the composition of raw material of the powdered protein preparation. The highest values of those parameters were reported for the hemp protein and pea protein concentrate. Based on the evaluation of the loose and tapped density parameters and static angle of repose, it was found that the powdered proteins tested were characterised by an average cohesiveness and a diverse flowability. Better physicochemical properties were characteristic for the products of plant origin. By measuring the dynamic angle of repose, it was possible to provide a relationship between the measuring surface applied and the flowability of the powdered protein tested. It was reported that the whey protein was characterised by the highest storing stability, whilst the hemp protein – by the lowest values of  $V_m$  and specific sorption surface. The above described research study

helped determine the storing stability of the commercial, powdered protein supplements manufactured industrially and evaluate their initial suitability during the handling or transhipment operations.

**Key words:** soy protein, whey protein, hemp protein, water content, water activity, loose and tapped density, static angle of repose, dynamic angle of repose, flowability, cohesiveness, colour 

AGNIESZKA LESZCZUK-PIANKOWSKA, BOGUSŁAW PAWLICKOWSKI,  
PIOTR BYKOWSKI, JUSTYNA FRANKOWSKA

## **OPTYMALIZACJA PROCESU STERYLIZACJI CIEPLNEJ KONSERW RYBNYCH**

### S t r e s z c z e n i e

Celem pracy była optymalizacja procesu cieplnej sterylizacji konserw rybnych na podstawie określenia rozkładu temperatury w autoklawach wodno-natryskowych. Testowano autoklavy stosowane w warunkach przemysłowej produkcji konserw rybnych.

Pierwszym etapem w procesie optymalizacji jest zbadanie rozkładu temperatury w autoklawach przemysłowych. Podczas tego etapu określa się pole temperaturowe w przestrzeni wewnętrznej zbiornika autoklawu z koszami sterylizacyjnymi zapelnionymi konserwami. Wyznaczenie najwolniej ogrzewającej się strefy autoklawu jest konieczne do dalszego prowadzenia badań penetracji ciepła w konserwach rybnych, a tym samym do wyznaczenia minimalnych czasów prowadzenia procesu sterylizacji w zadanej temperaturze do poziomu bezpiecznej (ze względów mikrobiologicznych) wartości sterylizacyjnej  $F_0$  minimum 3 min. Symbol  $F_0$  jest przyjętą jednostką działania temperatury referencyjnej 121 °C w danym czasie procesu sterylizacji cieplnej i jest wskaźnikiem określającym skuteczność inaktywacji mikroorganizmów. W trakcie badań dystrybucji temperatury porównywano czas ogrzewania przestrzeni wewnętrznej poszczególnych typów autoklawów do zadanej temperatury sterylizacji właściwej w najchłodniejszym punkcie zbiornika autoklawu w zależności od temperatury początkowej konserw rybnych. Porównywano także rozkład temperatury w poszczególnych typach autoklawów po 1, 3 i 5 min sterylizacji właściwej. W badaniach rozkładu temperatury przeprowadzonych w dziewięciu różnych autoklawach dowiedziono, że czas potrzebny do osiągnięcia temperatury sterylizacji właściwej  $\geq 115$  °C wynosi od 17 do 23 min. W warunkach produkcji przemysłowej, w której konieczne jest organizacyjne zoptymalizowanie procedury sterylizacji i ustanowienie jednego standardu tego procesu dla różnych autoklawów, oznacza to konieczność przyjęcia minimalnego czasu etapu grzania na poziomie 23 min.

Podstawowym celem procesu sterylizacji cieplnej jest bowiem zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktu spożywczego przy uwzględnieniu najtrudniejszych warunków wymiany ciepła w procesie.

**Słowa kluczowe:** konserwy rybne, autoklaw, sterylizacja, bezpieczeństwo mikrobiologiczne

---

*Dr inż. A. Leszczuk-Piankowska, mgr J. Frankowska, Graal S.A., ul. Zachodnia 22, 84-200 Wejherowo,  
dr inż. B. Pawlikowski, Morski Instytut Rybacki – PIB, ul. Kołłątaja 1, 81-332 Gdynia, prof. dr hab. inż.  
P. Bykowski, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski  
w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia. Kontakt: aleszczuk@graal.pl*

## **Wprowadzenie**

Proces sterylizacji cieplnej konserw to inaczej obróbka termiczna żywności w hermetycznie zamkniętym opakowaniu, np. w puszcze, przeprowadzana w urządzeniu ciśnieniowym zwanym autoklawem w określonym czasie, przy zadanym ciśnieniu i temperaturze powyżej 100 °C. Obróbkę termiczną konserw rybnych przeprowadza się w celu ich utrwalenia oraz nadania im tzw. gotowości kulinarnej. Oznacza to zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego, czyli brak rozwoju drobnoustrojów, w tym mikroorganizmów beztlenowych i zahamowanie procesów zmian enzymatycznych podczas kilkuletniego (2 - 5 lat) terminu przydatności do spożycia oraz gotowość do konsumpcji bez potrzeby zastosowania dodatkowych zabiegów kulinarnych [2, 3, 12].

W przemysłowej produkcji konserw rybnych bardzo ważne jest zapewnienie powtarzalności procesu obróbki cieplnej, a tym samym jego walidacja i optymalizacja, by zapewnić z jednej strony bezpieczeństwo zdrowotne produktu, a z drugiej – wysoką jakość sensoryczną. Walidację procesu sterylizacji przeprowadza się poprzez badania dystrybucji temperatury w autoklawie, a następnie testy penetracji ciepła w konserwach. Testy dystrybucji temperatury prowadzi się w celu ustalenia rozkładu temperatur w przestrzeni zbiornika roboczego autoklawu. Na podstawie tych testów ustala się najwolniej ogrzewające się punkty (strefy autoklawu) w trakcie procesu sterylizacji cieplnej. Testy dystrybucji temperatury pozwalają na określenie procedur odpowiedzialnych autoklawów parowych lub procedur grzania autoklawu do uzyskania możliwie wyrównanego pola temperaturowego w autoklawach, np. wodnych, natryskowych lub kaskadowych. Wyniki testów dystrybucji temperatury pozwalają na ocenę stanu technicznego pracy autoklawu i optymalizację jego funkcjonowania [4, 5, 7]. Przeprowadzanie testów dystrybucji temperatury jest wymagane przepisami prawa, np. w Stanach Zjednoczonych, co oznacza, że każdy importer konserw rybnych winien posiadać udokumentowane dowody ich przeprowadzenia [1, 4, 11].

Celem pracy była optymalizacja procesu cieplnej sterylizacji konserw rybnych na podstawie określenia rozkładu temperatury w autoklawach wodno-natryskowych.

## **Materiał i metody badań**

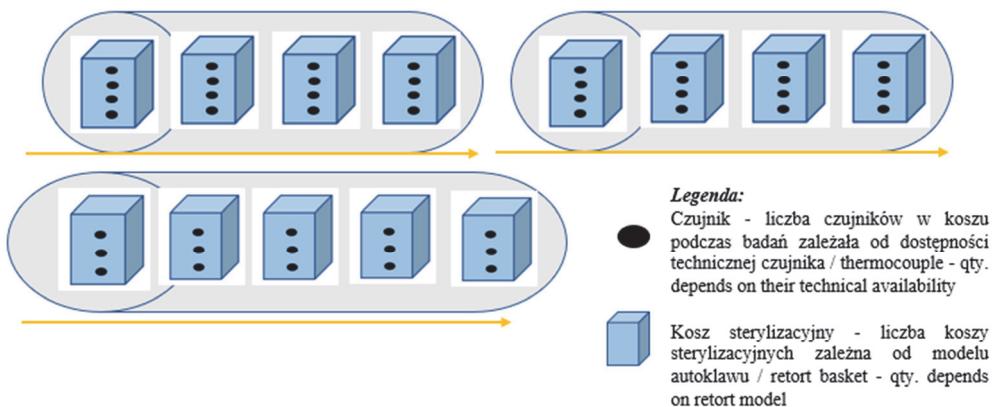
W pracy testowano autoklavy przemysłowe stosowane w zakładach przemysłu przetwórczego do sterylizacji cieplnej konserw rybnych. Wielkość wsadu w autoklawie 4-koszowym wynosiła średnio 1 436 kg masy konserw, a w 5-koszowym – 1 795 kg masy konserw. W tab. 1. przedstawiono warunki techniczne wraz z procedurą grzania przyjętą podczas badań dystrybucji ciepła w poszczególnych autoklawach.

Tabela 1. Warunki techniczne prowadzenia testów dystrybucji ciepła w autoklawach

Table 1. Technical conditions during heat distribution tests conducted in retorts

Oznaczenie autoklawu Retort number	Liczba koszy sterylizacyjnych Quantity of sterilisation baskets	Wyposażenie Equipment	Liczba punktów pomiarowych temperatury Quantity of thermocouples	Liczba testów Number of tests
1	4	Dysze natryskowe Spray nozzles	26	2
2	4	Dysze natryskowe Spray nozzles	12	1
3	4	Dysze natryskowe Spray nozzles	12	1
4	4	Dysze natryskowe Spray nozzles	12	1
5	4	Płyta natryskowa Shower plate	16	1
7	5	Dysze natryskowe Spray nozzles	15	1
8	5	Płyta natryskowa Shower plate	16	1
9	5	Płyta natryskowa Shower plate	15	1
10	4	Płyta natryskowa Shower plate	16	1
Procedura grzania autoklawu do zadanej sterylizacji właściwej w temp. 115 °C: Procedure of heating retort up to true sterilisation set at temperature of 115 °C: – do temp. 118 °C w ciągu 14 min / up to 118 °C during 14 min, – do temp. 117 °C w ciągu 13 min (efekt przegrzania) przed sterylizacją właściwą w temp. 115 °C up to 117 °C during 13 min (overheating effect) prior to true sterilisation at 115 °C				

Do rejestracji zmian temperatury w czasie używano mikroprocesorowego miernika temperatury TM 9616 (Ellab, Dania), wyposażonego w oprogramowanie ValSuite umożliwiające archiwizację danych. Czujniki temperatury zlokalizowane były pomiędzy puszkami znajdującymi się w koszu sterylizacyjnym na perforowanych przekładkach. Temperatura początkowa konserw załadowanych do koszy wynosiła od 18,2 do 34,9 °C. Lokalizacje czujników w koszach sterylizacyjnych przedstawiono na rys. 1.



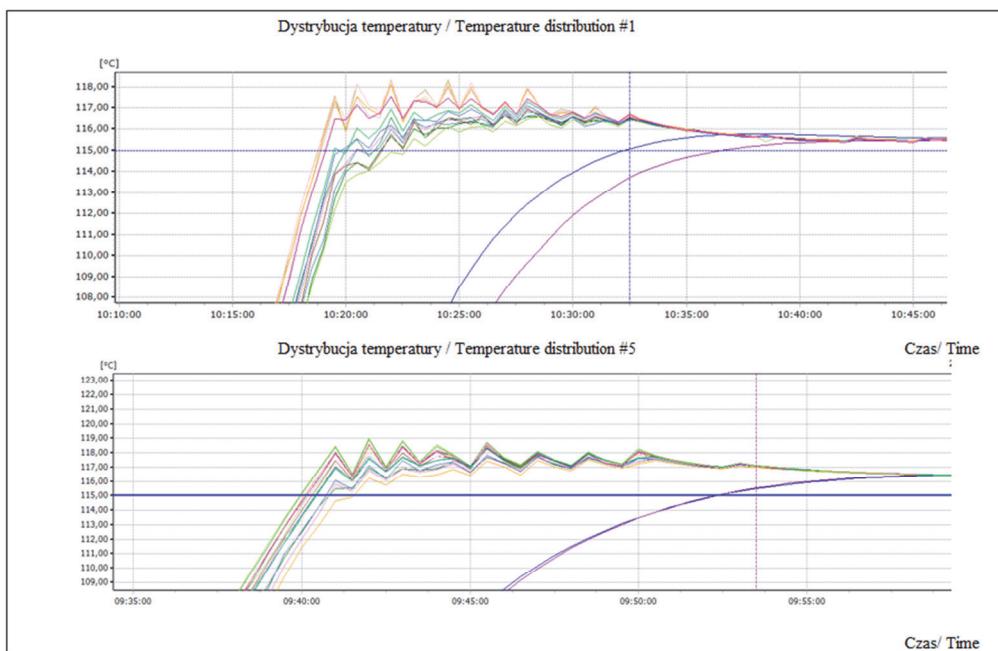
Rys. 1. Lokalizacja czujników w koszach sterylizacyjnych  
Fig. 1. Place of thermocouples in retort baskets

## Wyniki i dyskusja

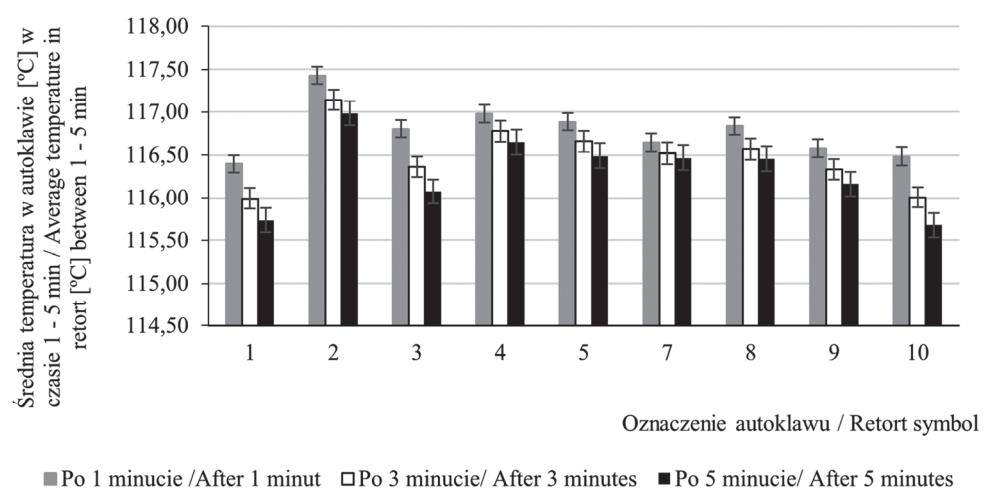
Dane pomiarowe zmian temperatury w czasie procedury grzania w każdym badanym autoklawie zapisywano w postaci wykresów. Na rys. 2. przedstawiono przykładowy zapis dystrybucji temperatury w autoklawach 1. i 5., wyposażonych odpowiednio w dysze natryskowe i w płytę natryskową.

Wyniki badania rozkładu temperatury w autoklawach (rys. 3) potwierdziły, że przyjęta procedura grzania była wystarczająca do uzyskania w zadany czasie 27 min temperatury sterylizacji właściwej na poziomie równym 115 °C lub wyższym. Należy jednak zaznaczyć, że pomimo tej samej procedury grzania w każdym autoklawie używano różne średnie temperatury środowiska grzejnego po 1, 3 i 5 min etapu sterylizacji właściwej, co związane było z technicznymi warunkami pracy danego układu, np. z liczbą koszy sterylizacyjnych, temperaturą początkową produktu, konstrukcją autoklawu (model) czy też położeniem w układzie linii technologicznej.

Podczas badań dystrybucji ciepła w autoklawach stwierdzono, że wraz z upływem czasu danego etapu sterylizacji właściwej średnia różnica temperatury między najcieplejszym a najchłodniejszym punktem po 1, 3 i 5 min w każdym autoklawie systematycznie malała (rys. 4). Najwyższą średnią różnicę temperatury (0,47 °C) po 1 min odnotowano w autoklawie 1., a najniższą (0,07 °C) – w autoklawie 9. Najwyższą średnią różnicę temperatury (0,23 °C) po 5 min odnotowano w autoklawie 3., a najniższą (0,04 °C) – w autoklawie 9. Autoklawy wyposażone w płytę natryskową osiągały skuteczniejszą dystrybucję temperatury, tzn. niższą średnią różnicę temperatury (0,13 ÷ 0,17 °C) niż autoklawy wyposażone w dysze natryskowe (0,22 ÷ 0,31 °C). Po przeanalizowaniu wyników dystrybucji temperatury w autoklawach wykazano, że przyjęta

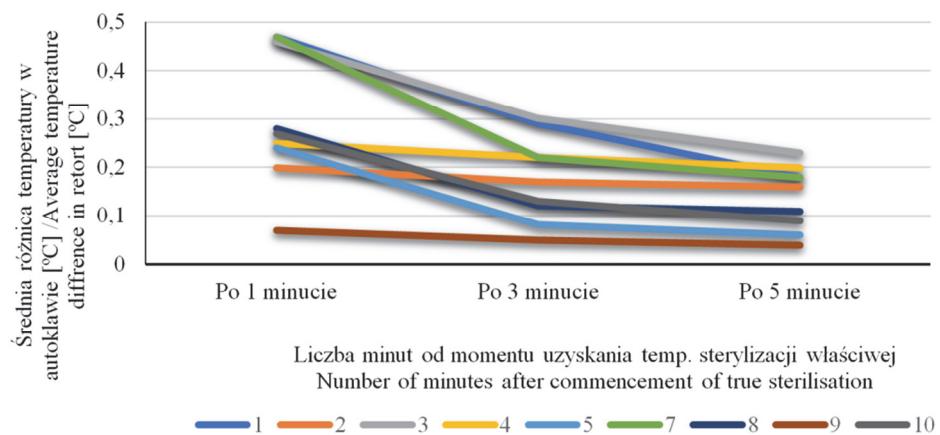


Rys. 2. Dystrybucja temperatury w autoklawie 1. i 5.  
Fig. 2. Temperature distribution in retort 1 and 5

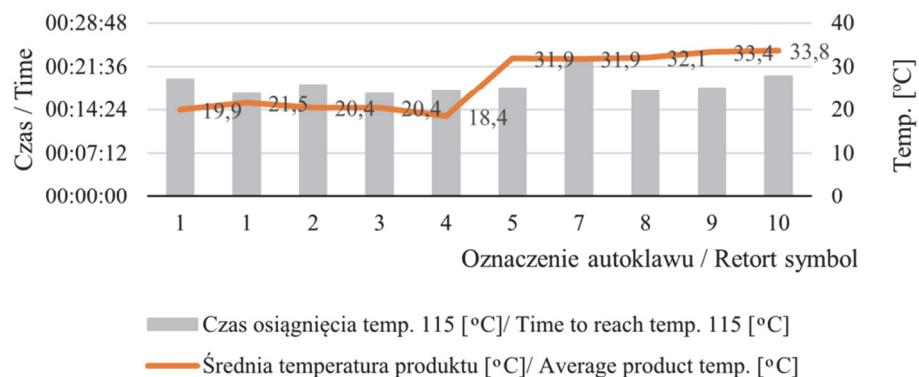


Rys. 3. Średnia temperatura w autoklawie po 1, 3 i 5 min sterylizacji właściwej  
Fig. 3. Average temperature in retort after 1, 3 and 5 min of true sterilisation

procedura grzania zapewniała równomierną dystrybucję temperatury w autoklawach przemysłowych, a tym samym spełniony został warunek formalny, aby różnica temperatur na koniec etapu grzania nie była wyższa niż 0,5 °C.



Rys. 4. Średnia różnica temperatury w autoklawach (1 - 10) po 1, 3 i 5 min sterylizacji właściwej  
Fig. 4. Average temperature difference in retorts (1 - 10) after 1, 3 and 5 min of true sterilisation



Rys. 5. Temperatura produktu a czas osiągnięcia temp. 115 °C w autoklawach (1 - 10)  
Fig. 5. Product temperature and time to reach 115 °C in retorts (1 - 10)

Następnie podjęto próbę sprawdzenia, czy średnia temperatura produktu miała wpływ na czas konieczny do uzyskania temperatury sterylizacji właściwej  $\geq 115$  °C przez dany autoklaw (rys. 5). W warunkach produkcji przemysłowej nie stwierdzono istnienia takiej korelacji, co można tłumaczyć tym, że początkowa różnica temperatury konserw w małych płaskich opakowaniach o deklarowanej masie netto produktu 170 g

załadowanych do koszy nie była na tyle istotna, by wpłynąć na czas konieczny do uzyskania temperatury sterylizacji właściwej w najwolniej ogrzewającym się punkcie autoklawu.

Wyniki badań umożliwiały przyjęcie zoptymalizowanej procedury grzania w procesie sterylizacji w różnych typach autoklawów. Oznacza to, że w sytuacji, gdy autoklavy stosowane w jednym układzie sterowania osiągają zadaną temperaturę sterylizacji  $\geq 115^{\circ}\text{C}$  w ciągu  $17 \div 23$  min, za optymalny czas grzania należy uznać ten, który jest najdłuższy. Związane jest to z wymaganiami dobrych praktyk, które zalecają, aby w momencie rozpoczęcia etapu sterylizacji właściwej każdy z punktów autoklawu osiągnął zadaną temperaturę sterylizacji właściwej. Przyjęcie krótszego czasu w procedurze grzania może skutkować tym, że nie we wszystkich autoklawach w najwolniej ogrzewających się punktach uzyskana zostanie temperatura sterylizacji właściwej.

Z uwagi na to, że wyniki dystrybucji temperatury w poszczególnych autoklawach są specyficzne dla danego urządzenia, trudno jest je odnosić do innych wyników publikowanych w literaturze. Elementem wspólnym wszystkich badań i ich wyników było stwierdzenie, że testy dystrybucji temperatury pozwoliły na ocenę i identyfikację warunków pracy urządzenia oraz na optymalizację procedury procesu sterylizacji [6, 8, 9, 10].

## **Wnioski**

1. Badania dystrybucji ciepła w autoklawach pozwoliły na ustalenie różnic temperatury w momencie rozpoczęcia etapu sterylizacji właściwej oraz na wyznaczenie optymalnego czasu grzania tych autoklawów do zadanej temperatury sterylizacji właściwej.
2. Badania dystrybucji ciepła są ważne, gdyż służą projektowaniu procedury grzania autoklawu tak, aby na koniec etapu grzania różnica temperatur między najchłodniejszym a najcieplejszym punktem w autoklawie nie była wyższa niż  $0,5^{\circ}\text{C}$ .
3. Analiza dystrybucji ciepła umożliwia optymalizację procedur grzania w sytuacji, gdy w danym zakładzie do kierowania pracą autoklawów stosuje się jeden centralny systemem sterowania.
4. Stwierdzono, że jeżeli różnica temperatur w poszczególnych punktach autoklawów przemysłowych jest mniejsza niż  $0,5^{\circ}\text{C}$ , to urządzenia pracują poprawnie, a ich stan techniczny nie budzi zastrzeżeń.
5. Optymalizacja procedur grzania za pomocą wykonanych testów dystrybucji temperatury stwarza możliwość uzyskania pozytywnego efektu ekonomicznego i środowiskowego związanego z niższym poziomem zużyciem mediów na dany cykl procesu.

## Literatura

- [1] Code of Federal Regulation Title 21 – Food and Drug. Part 113 – Thermally processed low-acid foods packaged in hermetically sealed containers.
- [2] Downing D.: A Complete Course in Canning. Vol. 1. Fundamental Information on Canning. 13<sup>th</sup> ed. CTI Publications Inc., Baltimore, Maryland 1996.
- [3] FAO/WHO: Code of hygienic practice for low and acidified low acid canned foods. CAC/RCP 23-1979.
- [4] Institute for Thermal Processing Specialists: Guidelines for Conducting Thermal Process Studies. IFTPS, Guelph 2014.
- [5] Great Britain Department of Health: Guidelines for the Safe Production of Heat Preserved Foods. HMSO, London 1994.
- [6] Ismail I.M., Fahmy A., Abadir M., Fateen S.: Optimizing the sterilization process of canned food using temperature distribution studies. IOSR J. Agric. Veter. Sci., 2013, 6 (4), 26-33.
- [7] Kołodziejski W., Pawlikowski B.: Przemysłowa sterylizacja konserw rybnych. Morski Instytut Rybacki, Gdynia 2005.
- [8] Smout C., Loey V., Hendrickx M.: Non-uniformity of lethality in retort processes based on heat distribution and heat penetration data. J. Food Eng., 2000, 45, 103-110.
- [9] Smout C., Loey V., Hendrickx M.: Role of temperature distribution studies in the evaluation and identification of processing condition for static and rotary water cascading retorts. J. Food Eng., 2001, 48, 61-68.
- [10] Varga Sz., Oliveira J., Smout Ch., Hendrickx M.: Temperature distribution analysis of a water cascading retort in rotary and static modes. Int. J. Food Sci. Technol., 2000, 36, 551-562.
- [11] Wedding L.M., Balestrini C.G., Shafer B.D.: Canned Food. Principles of Thermal Process Control, Acidification and Container Closure Evaluation. 7 ed. GMA Science and Education Foundation, Washington 2007.
- [12] Ziembka Z.: Podstawy cieplnego utrwalania żywności. WNT, Warszawa 1980.

## OPTIMISATION OF THERMAL STERILISATION PROCESS OF CANNED FISH PRODUCTS

### S u m m a r y

The objective of the research study was to optimise the process of thermal sterilisation of canned fish products on the basis of the determination of temperature distribution in water-spray autoclaves. Tested were retorts used under the industrial production conditions of canned fish.

The first stage of the optimisation process is to study the temperature distribution in industrial autoclaves. At this stage, the temperature field is determined in the inner space of autoclave vessel with the product-filled sterilisation baskets. It is necessary to determine the slowest heating autoclave zone in order to further conduct heat penetration tests in canned fish and thus to determine the minimum duration times of sterilisation at a set temperature so as to reach a level of safe (microbiologically) sterilisation value of  $F_0$  for the minimum 3 min. The  $F_0$  symbol is an assumed unit of operation of 121 °C reference temperature during the given time of thermal sterilisation process and it is an indicator to determine the effectiveness of inactivation of microorganisms. During the temperature distribution analyses, there were compared the duration time of inner space heating in individual autoclaves to the true sterilisation temperature set in the coldest point of a given vessel depending on the initial temperature of canned fish. Also the temperature distribution was compared in the individual autoclaves after the 1, 3 and 5 min of the true sterilization. The

temperature distribution analyses were conducted in nine different autoclaves and their results proved that the time needed to reach a true sterilisation temperature  $\geq 115$  °C was 17 to 23 min. This means that a minimum time of 23 min is required for the heating stage duration under the industrial production conditions, where it is necessary to organisationally optimise the sterilisation procedure and to establish one sterilisation process pattern for several autoclaves. Thus the basic objective of the heat sterilisation process is to ensure microbiological safety of a food product having regard to the most difficult conditions of heat exchange during the process.

**Key words:** canned fish products, retort, sterilisation, microbiological safety 

ANITA KUKUŁOWICZ, IZABELA STEINKA, ADRIANNA SIWEK

**PRODUKTY POCHODZENIA WODNEGO O RÓŻNYM STOPNIU  
PRZETWORZENIA JAKO ŹRÓDŁO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*  
METYCYLINOOPORNYCH**

S t r e s z c z e n i e

Produkty pochodzenia wodnego należą do głównych źródeł białka i innych składników odżywcznych. Odgrywają one istotną rolę w diecie człowieka. *Staphylococcus aureus* uważane są za jedne z najczęściej występujących na świecie patogenów przenoszonych przez żywność. *S. aureus* nie jest rodzimą florą produktów pochodzenia wodnego, jednak bakterie te można izolować ze świeżo złowionych ryb. Dodatkowe zanieczyszczenie tych produktów może wynikać z niewłaściwego obchodzenia się z nimi, przechowywania w nieodpowiednich warunkach, przenoszenia patogenu przez pracowników, jak też może być następstwem zanieczyszczenia krzyżowego. Powszechnie stosowanie antybiotyków w ostatnich latach doprowadziło do gwałtownego wzrostu oporności na antybiotyki wśród bakterii patogennych. W związku z powyższym niniejsze badania przeprowadzono w celu oceny występowania *S. aureus* metycylinoopornych (MRSA) w produktach pochodzenia wodnego o różnym stopniu przetworzenia (mrożonych, wędzonych, marynowanych i surowych). Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że MRSA najczęściej występował w próbach mrożonych (ok. 83 %), a najrzadziej – w produktach marynowanych (ok. 29 %). Pomimo tego, że najniższy odsetek prób, w których stwierdzono występowanie *S. aureus* metycylinoopornych, stanowiły produkty marynowane, to najniższą średnią ilość tych bakterii stwierdzono w przetworach wędzonych (0,54 log jtk/g). Ogólnie ok. 41 % prób było zanieczyszczonych tymi bakteriami.

**Słowa kluczowe:** produkty pochodzenia wodnego, *Staphylococcus aureus*, zanieczyszczenie patogenami, MRSA

**Wprowadzenie**

Produkty pochodzenia wodnego odgrywają ważną rolę w diecie, dostarczając prawie 20 % białka zwierzęcego konsumowanego przez 7,5 mld ludzi na świecie [16]. Z danych przedstawionych przez Hryszkę [3] wynika, że bilansowe spożycie ryb

---

*Dr inż. A. Kukułowicz, prof. dr hab. I. Steinka, mgr inż. A. Siwek, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia.  
Kontakt: a.kukulowicz@wzpj.ung.edu.pl*

i owoców morza w 2019 r. wyniosło w Polsce 13,11 kg/mieszkańca i było o 0,7 % większe niż rok wcześniej. Wydatki gospodarstw domowych ponoszone na zakup tych produktów wzrosły o 8,1 % [6]. W kolejnych latach prognozowany jest wzrost konsumpcji ryb i owoców morza [20]. Z danych literaturowych wynika, że średnio 64 % Polaków spożywa ryby i owoce morza przynajmniej raz w tygodniu lub częściej, natomiast 28 % – dwa lub więcej razy w tygodniu. Najczęstszymi wyborami Polaków są produkty świeże oraz wędzone, które wskazywało odpowiednio: 51 i 50 % respondentów [2]. W strukturze wydatków gospodarstw domowych przeważają ponadto przetwory i konserwy (34 %), ryby wędzone, suszone i solone (23 %), ryby świeże (22 %) i ryby mrożone (19 %) [3]. Spożycie ryb i produktów rybnych, zwłaszcza w przypadku ich konsumpcji w stanie surowym lub niedogotowanym, często prowadzić może do wystąpienia chorób u ludzi. Spożywanie zanieczyszczonych bakteriami ryb i owoców morza wiąże się m.in. z zapaleniem żołądka i jelit, występowaniem krwawej biegunki, skurczami brzucha i wymiotami [5, 11, 13]. Obecność w tych produktach różnych gatunków bakterii, w tym chorobotwórczych dla ludzi, tj. *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni* może wynikać z bezpośredniego kontaktu z zanieczyszczonym środowiskiem wodnym, osadem lub skażoną paszą [5, 11, 17].

Źródła i czynniki mogące przyczyniać się do rozwoju mikroorganizmów chorobotwórczych, bakterii opornych na antybiotyki oraz powodujących psucie się produktów pochodzenia wodnego mogą być różne w zależności od etapu łańcucha produkcji i dostaw [11]:

1. Przed zbiorem lub połowem:

- woda – pochodzenie (morza, jeziora, rzeki, studnie), jakość wody, w tym czynniki chemiczne (np. pH, O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, zasolenie) oraz mikrobiologiczne (różnorodność, obfitość),
- osad – obecność zwierzęcych i/lub ludzkich zanieczyszczeń (np. obornika),
- czynniki środowiskowe – pory roku, opady deszczu,
- praktyki w akwakulturze – działania rutynowe (zarybianie, sposób odżywiania, gęstość obsady zwierząt akwakultury), stan zdrowia ryb (infekcje, choroby bakteryjne), leczenie ryb (np. antybiotyki, metale ciężkie).

2. Po zbiorze lub poowie:

a) przetwarzanie:

- powierzchnie mające kontakt z żywnością (np. krajalnice, maszyny do patroszenia, stoły produkcyjne),
- powierzchnie pozbawione kontaktu z żywnością (np. podłogi, ściany, przewody kanalizacyjne, wentylacyjne),
- zabiegi/interwencje (chemiczne, biologiczne, inne zabiegi nietermiczne)

b) pakowanie, przechowywanie, transport:

- obecność konserwantów,
- skład atmosfery (np. pakowanie produktów w modyfikowanej atmosferze, w próżni, w powietrzu),
- temperatura,
- czas,
- sposób postępowania z produktem – sprzedawcy, restauratora, konsumenta (zanieczyszczenia krzyżowe, wtórne zanieczyszczenia).

Rzepkowska i wsp. [10] oraz Solomon i wsp [13] podają, że z żywności pochodzenia wodnego, ale także z pasz dla zwierząt oraz ich odchodów często izoluje się organizmy odporne na wiele leków. Ryby zostały zakwalifikowane jako rezerwuary bakteryjnych patogenów powiązanych z chorobami człowieka. Ponadto obecność w tych mikroorganizmach genów determinujących oporność drobnoustrojów na antybiotyki wywołuje obawy dotyczące rozprzestrzeniania się bakterii antybiotykoodpornych w środowisku oraz wśród ludzi [5]. W ostatnich latach antybiotyki były stosowane nie tylko w leczeniu infekcji u ludzi i zwierząt, ale również wykorzystywano je w hodowli zwierząt i w akwakulturze do wspomagania wzrostu, zwiększenia efektywności wykorzystania paszy, w profilaktyce zakażeń. Jednak w przeciwnieństwie do ludzi, którym antybiotyki są przepisywane na określony czas po zdiagnozowaniu infekcji bakteryjnych, stosowanie antybiotyków u zwierząt i w akwakulturze jest niejednokrotnie nieuzasadnione. Ze względu na nieuregulowane stosowanie antybiotyków do celów innych niż leczenie infekcji, ludzie są narażeni na działanie patogenów antybiotykoodpornych obecnych w żywności i w środowisku [16, 17].

Celem niniejszej pracy była ocena występowania bakterii *S. aureus* metycylinoopornych (MRSA) w produktach pochodzenia wodnego o różnym stopniu przetworzenia pochodzących z punktów handlowych znajdujących się na terenie Trójmiasta.

### **Materiał i metody badań**

Badaniom poddano zakupione w różnych punktach handlowych mrożone ( $n = 12$ ), marynowanie ( $n = 7$ ), wędzone ( $n = 8$ ) i surowe ( $n = 17$ ) produkty pochodzenia wodnego. Przetwory marynowane pobierane były z opakowań jednostkowych, natomiast pozostałe produkty nie miały opakowania. Zakupione produkty ze sklepu do laboratorium mikrobiologicznego przewożono w termoizolacyjnej torbie, umożliwiającej zachowanie ciągłości tzw. zimnego łańcucha dostaw. Transport próbek nie przekraczał 2 h. Bezpośrednio po dostarczeniu produktów do laboratorium poddawano je analizom. W komorze z laminarnym przepływem powietrza pobierano 20 g produktu, a następnie homogenizowano ze 180 ml roztworu soli fizjologicznej przy użyciu Stomacher Lab-Blender 400 (Seward, Worthing, Wielka Brytania). Pierwszym etapem izolacji gronkowców było prenamnażanie na podłożu Giolitti-Cantoni (Merck, Niem-

cy). Warunki inkubacji to: temp. 37 °C, 24 h, warunki beztlenowe. Po upływie 24 h z każdej próbówki, w której stwierdzono obecność gronkowców (zaczernienie podłożu), wykonywano posiew powierzchniowy (0,1 ml) na płytce z podłożem CHROMagar MRSA (Graso Biotech, Gdańsk, Polska) do izolacji i szybkiej identyfikacji *Staphylococcus* opornych na metycylinę. Inkubację prowadzono przez 24 h w temp. 37 °C. Kolonie o barwie różowej kwalifikowano zgodnie z instrukcją jako *Staphylococcus aureus* metycylinooporne, a następnie liczbę komórek bakterii wyznaczano zgodnie z PN-EN ISO 7218:2008 [7].

Dane poddano transformacji  $\log jtk/g+1$  ze względu na występowanie próbek bez *S. aureus*. Homogeniczność wariancji badano testem Levene'a. W analizie wpływu sposobu utrwalania na liczbę *S. aureus* w produktach zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między podgrupami weryfikowano testem Tukeya dla różnych liczebności. Zależność między występowaniem *S. aureus* w próbach a sposobem utrwalania określano za pomocą testu  $\chi^2$  [15].

## Wyniki i dyskusja

Najwyższą liczbę metycylinoopornych gronkowców stwierdzono w grupie produktów mrożonych. Średnia liczba MRSA w badanych próbkach różniła się w zależności od sposobu przetworzenia i zawierała się w granicach  $0,54 \div 2,268 \log jtk/g+1$  w produktach odpowiednio: wędzonych i mrożonych. Różnice między tymi grupami były statystycznie istotne –  $F = 3,917$ ,  $p = 0,0153$ ;  $\eta^2$  cząstkowe = 0,227 (tab. 1). Maksymalne liczby MRSA w produktach surowych i marynowanych były na podobnym poziomie (tab. 1).

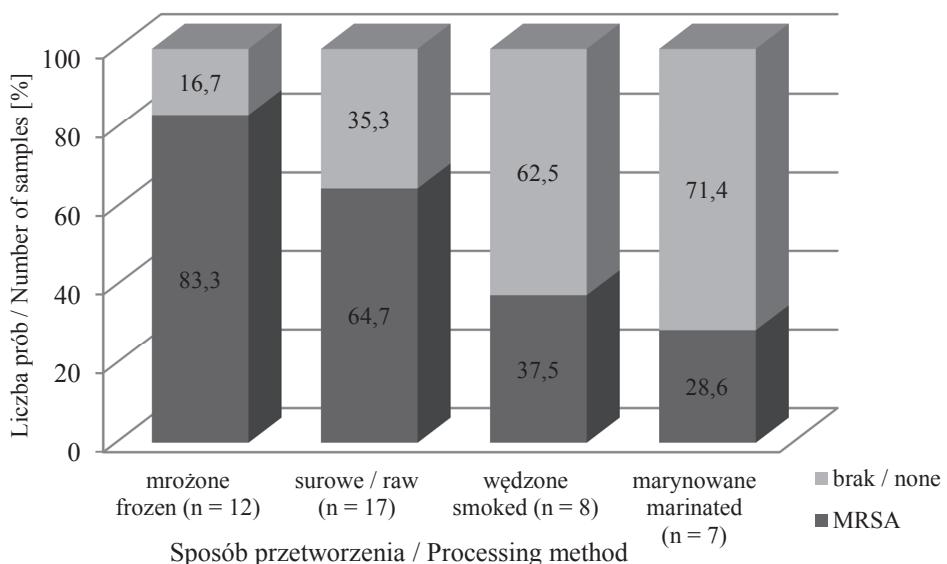
Tabela 1. Liczba metycylinoopornych *S. aureus* w zależności od rodzaju przetworzenia badanych produktów [ $\log jtk/g+1$ ]

Table 1. Count of methicillin-resistant *S. aureus* depending on the type of processing of products tested [ $\log CFU/g+1$ ]

Sposób przetworzenia produktów Types of product processing	n	$\bar{x}$	SD	$x_{\min.}$	$x_{\max.}$
mrożone / frozen	12	2,268 <sup>a</sup>	1,251	0	3,634
surowe / raw	17	1,334	1,121	0	3,486
marynowane / marinated	7	0,924	1,584	0	3,477
wędzone / smoked	8	0,540 <sup>a</sup>	0,771	0	1,785

Objaśnienia / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; SD – odchylenie standardowe / standard deviation;  $x_{\min.}$  – wartość minimalna / minimum value;  $x_{\max.}$  – wartość maksymalna / maximum value. Wartości średnie oznaczone literą a różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) / mean values denoted by letter a differ statistically significantly ( $p < 0,05$ ).



Rys. 1. Odsetek prób, w których stwierdzono występowanie *Staphylococcus aureus* metycylinoopornych w zależności od sposobu przetworzenia

Fig. 1. Percent number of samples, in which methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was found depending on the type of processing

MRSA najczęściej występowały w próbkach poddanych mrożeniu (ok. 83 %), a najrzadziej w wyrobach marynowanych (ok. 29 %) – rys. 1. W produktach rybołówstwa poddanych mrożeniu potwierdzono występowanie *S. aureus* metycylinoopornych na poziomie 17,5 % [4], 20 % [21], 30 % [19], a nawet 34 % [14], zatem nie obserwowano tak wysokiego odsetka próbek zanieczyszczonych tymi bakteriami, jaki uzyskano w badaniach własnych. Otrzymane wyniki stanowią rezultat wstępnych oznaczeń i wymagają dodatkowej weryfikacji. Nie potwierdzono zależności pomiędzy występowaniem MRSA a sposobem przetwarzania produktów ( $\chi^2 = 7,38$ ,  $p = 0,0608$ ). W niniejszych badaniach przeanalizowano łącznie 44 losowe próbki produktów pochodzenia wodnego na obecność MRSA i bakterie te wyizolowano z 18 próbek, co oznacza, że łącznie ok. 41 % próbek było zanieczyszczonych tymi bakteriami. Wszystkie produkty przetworzone ( $n = 27$ ) były zanieczyszczone w ponad 55 %, natomiast surowe ( $n = 17$ ) – w ok. 65 %. Solomon i wsp. [13] wykazali w surowych krewetkach obecność MRSA jedynie w 11 % próbek. Sivaraman i wsp. [12] stwierdzili podobną liczbę zanieczyszczonych produktów, spośród których ponad 93 % było opornych na wiele środków przeciwdrobnoustrojowych. W niniejszych badaniach odsetek prób zanieczyszczonych MRSA był ponad 5-krotnie wyższy (rys. 1). Vazquez-Sanchez i wsp. [19] wykryli *S. aureus* metycylinooporne w ok. 25 % produktów rybołówstwa, z czego

największą liczbę zanieczyszczonych prób stanowiły produkty świeże (43 %) i mrożone (30 %), następnie solone (27 %) oraz wędzone (26 %). Sultana i wsp. [17] stwierdzili występowanie MRSA w prawie 25 % mrożonych próbek żywności, co było wynikiem ponad 3-krotnie niższym od uzyskanych w niniejszych badaniach (rys. 1) oraz nieznacznie niższym od wyników, które odnotowali Vazquez-Sanchez i wsp. [19]. Różnica w częstości występowania MRSA w poddanych analizom próbach może być związana z metodami postępowania podczas przetwarzania, warunkami przechowywania, sposobem gromadzenia i pakowania mrożonych produktów, obchodzeniem się z surowcami, jak też dużą odległością od łowisk do brzegu [1, 19]. Mrożone produkty pochodzenia wodnego bywają przechowywane w zmiennych temperaturach, a tym samym mogą przechodzić cykle zamrażania i rozmrzania, co stanowi zagrożenie dla zdrowia konsumentów [13].

Raymond i Ramachandran [8] zestawili kryteria mikrobiologiczne dotyczące patogenów bakteryjnych w produktach rybołówstwa odnoszące się do różnych krajów. Pomimo obecności wielu szczepów *S. aureus* opornych na antybiotyki w różnych rybach i owocach morza, wciąż brak jest ustalonych kryteriów mikrobiologicznych dotyczących liczby MRSA. Zawarte w obowiązującym w Polsce Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 [9] limity dotyczą jedynie występowania *S. aureus* w produktach z gotowanych skorupiaków i mięczaków bez skorup i muszli. Odniesiono jednak powyższe kryteria do wyników badań własnych i stwierdzono, że żadna z grup badanych produktów nie przekroczyła wartości progowej  $3,0 \log \text{ jtk/g}$  (tab. 1). Vazquez-Sanchez i wsp. [19] badali produkty wędzone, mrożone oraz surowe i uzyskali odpowiednio [%]: 7, 7 i 4,8 próbek, w których wartości przekraczały  $3,0 \log \text{ jtk/g}$ , natomiast w niniejszych badaniach uzyskano odpowiednio [%]: 0, 42 i 6 takich wyników. MRSA nie jest naturalną mikroflorą produktów pochodzenia wodnego, stąd do zanieczyszczenia tymi bakteriami doszło na skutek niewłaściwego obchodzenia się przez osoby uczestniczące w przetwarzaniu ryb czy handlu nimi [18]. Poddane analizie mikrobiologicznej produkty (z wyjątkiem marynowanych) sprzedawane były bez opakowań jednostkowych, co mogło dodatkowo wpływać na występowanie MRSA. W produktach marynowanych obserwowano najniższy odsetek zanieczyszczonych prób (rys. 1), co oprócz zastosowanego opakowania mogło wynikać z obecności słabych kwasów wpływających na przeżywalność drobnoustrojów. Dodatkowo na obecność mikroorganizmów chorobotwórczych mogą wpływać różne czynniki, w tym właściwe praktyki akwakulturowe, warunki środowiskowe, produkcja, przetwarzanie, dystrybucja, sprzedaż detaliczna, obsługa lub przygotowanie [11].

## Wnioski

1. Około 41 % produktów pochodzenia wodnego o różnym stopniu przetworzenia było zanieczyszczonych metycylinoopornymi *Staphylococcus aureus*.

2. Średnia liczba MRSA w produktach wędzonych i mrożonych różniła się w sposób statystycznie istotny.
3. Istnieje potrzeba ciągłego monitorowania łańcucha produkcyjnego.

*Praca została sfinansowana ze środków WZNJ/2021/PZ/01*

### Literatura

- [1] Ali F.S., Lupindu A.M, Mdegela R.H, Mmoch A.J.: Occurrence of *Staphylococcus aureus* in fresh Indian mackerel fish. Tanzania Veterinary Association Proceedings, 2019, 37, 7-16.
- [2] Badowski M.: Polacy pokochali ryby. [on line]. Strefa Biznesu. Dostęp w Internecie [28.04.2021]: <https://strefabiznesu.pl/polacy-pokochali-ryby-najczesciej-wybieramy-swieze-ale-przez-pandemie-covid19-zauwazamy-rosnacy-popyt-na-produkty-mrozone-i/ar/c3-15179942>
- [3] Hryszko K.: Rynek i spożycie ryb w 2019 roku. XLV Szkolenie – Konferencja Hodowców Ryb Łososiowatych – Webinarium, Rumia, 14 października 2020 r.
- [4] Lekshmi R.G., Kumar K., Anas K., Lekshmi M., Nayak B.B., Kumar S.: Incidence of methicillin-resistant staphylococci in fresh seafood. Adv. Microbiol., 2016, 6, 399-406.
- [5] Novoslavskij A., Terentjeva M., Eizenberga I., Valciņa O., Bartkevičs V., Bērziņš A.: Major food-borne pathogens in fish and fish products: A review. Ann. Microbiol., 2016, 66, 1-15,
- [6] Pieńkowska B., Hryszko K.: Spożycie ryb i owoców morza oraz ich przetworów. Rynek ryb – stan i perspektywy, 2018, 29, 30-34.
- [7] PN-EN ISO 7218:2008. Mikrobiologia żywności i pasz. Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych.
- [8] Raymond A., Ramachandran A.: Bacterial pathogens in seafood – Indian scenario. Fishery Technology, 2019, 56, 1-22.
- [9] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. U. L 338, ss. 1-26, z 22.12.2005.
- [10] Rzepkowska A., Zielińska D., Kołozyn-Krajewska D.: Antybiotykooporność bakterii z rodzaju *Lactobacillus* pochodzących z żywności jako kryterium stawiane probiotykom. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2014, 578, 99-110.
- [11] Sheng L., Wang L.: The microbial safety of fish and fish products: Recent advances in understanding its significance, contamination sources, and control strategies. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 2021, 20, 738-786.
- [12] Sivaraman G.K., Lalitha K.V., Shankar C.N.R., Jha A.K., Remya S., Vanik D., Visnuvinayagam S., Kriplani Y., Ajeesh: Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* in fish and its multiple drug resistant pattern. J. Envir. Biol., 2017, 38, 389-392.
- [13] Solomon L., Ogugbue C.J., Okpokwasili G.C.: Antibiotic resistance profiles of bacteria associated with fresh and frozen shrimp (*Palaemonetes* sp.) and their public health significance. Int. J. Scient. Res. Knowledge, 2013, 1 (10), 448-456.
- [14] Soltan Dallal M.M., Nezhad Fard R.M., Sharifi-Yazdi M.K.: Prevalence of sea, seb, tsst, and meCA genes in *Staphylococcus aureus* isolated from shrimps sold in seafood retailers in Tehran, Iran. J. Food Qual. Hazards Control., 2018, 5 (2), 72-76.
- [15] StatSoft, Inc.: STATISTICA (data analysis software system). Version 10, 2011.
- [16] Stephen J., Mukherjee S., Lekshmi M., Kumar S.H., Varela M.F.: Antibiotic resistance in fish-borne pathogens of public health significance: An emerging food safety issue. Curr. Trends Microbiol., 2020, 14, 11-20.

- [17] Sultana F., Kamrunnahar, Afroz H., Jahan A., Fakruddin M., Datta S.: Multi-antibiotic resistant bacteria in frozen food (ready to cook food) of animal origin sold in Dhaka, Bangladesh. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2014, 4 (1), 268-271.
- [18] Vaiyapuri M., Joseph T.C., Rao B.M., Lalitha K.V., Prasad M.M.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in seafood: Prevalence, laboratory detection, clonal nature, and control in seafood chain. *J. Food Sci.*, 2019, 84, 3341-3351.
- [19] Vazquez-Sanchez D., Lopez-Cabo M., Saa-Ibusquiza P., Herrera J.J.R.: Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, 157, 286-296.
- [20] Biuro Strategii i Analiz Międzynarodowych: Wpływ światowej pandemii koronowirusa na branżę ryb i owoców morza. [on line]. 2020. Dostęp w Internecie [28.04.2021]: [https://wspieramyeksport.pl/api/public/files/1956/Rybna\\_lipiec\\_2020.pdf](https://wspieramyeksport.pl/api/public/files/1956/Rybna_lipiec_2020.pdf)
- [21] Zarei M., Maktabi S., Ghorbanpour M.: Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2012, 9, 108-112.

#### AQUATIC PRODUCTS OF DIFFERENT PROCESSING LEVELS AS A SOURCE OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

##### S u m m a r y

Aquatic products are one of the main sources of protein and other nutrients. They play a significant role in the human nutrition. *Staphylococcus aureus* is considered to be the most commonly occurring food-borne bacterial pathogen in the world. *S. aureus* is not a native microflora of aquatic products, but it can be isolated from freshly caught fish. Those products can be additionally contaminated owing to the incorrect handling, storage under improper conditions, transmission of the pathogen by workers and also it may be a consequence of cross-contamination. The wide use of antibiotics in the recent years led to a rapid increase in the antibiotic resistance among the pathogenic bacteria. For this reason, the present research study was performed to evaluate the occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the aquatic products of different processing levels (frozen, smoked, marinated and raw). Based on the research conducted, it was shown that MRSA most often occurred in the frozen samples (approx. 83 %), and the least frequently in the marinated products (approx. 29 %). Although the lowest percent number of samples with methicillin-resistant *S. aureus* was reported in the marinated products, the lowest average number of those bacteria was found in the smoked products (0.54 log CFU/g). Generally, about 41 % of the samples were contaminated by those bacteria.

**Key words:** aquatic products, *Staphylococcus aureus*, pathogen contamination, MRSA 

WAWRZYNIEC WACŁAWEK, JOLANTA MAŁAJOWICZ

**ZASTOSOWANIE WYBRANYCH ADSORBENTÓW DO WYDZIELANIA  
Z PODŁOŻA HODOWLANEGO GAMMA-DEKALAKTONU  
PRODUKOWANEGO PRZEZ DROŻDŻE *YARROWIA LIPOLYTICA***

**S t r e s z c z e n i e**

Gamma-dekalakton (GDL) to cykliczny ester o intensywnym, brzoskwiniowo-olejowym zapachu, wykrywalnym przy stężeniu poniżej 5 mg/dm<sup>3</sup>. Związek ten stosuje się w przemyśle spożywczym do nadania właściwych cech sensorycznych takim produktom, jak: napoje, wyroby piekarskie, desery, słodycze czy gumy do żucia. GDL jest objęty statusem GRAS (*Generally Recognized As Safe*) i uznawany za bezpieczny dodatek do żywności. Lakton może być produkowany metodami chemicznymi lub biotechnologicznymi. Wzrost świadomości konsumentów i aktualny trend w kierunku bioproduktów przyczynia się do upowszechniania biotechnologicznej syntezy  $\gamma$ -dekalaktonu. Trudnością w produkcji GDL z udziałem mikroorganizmów jest wydzielenie go z podłoża biotransformacyjnego, stanowiącego mieszaninę metabolitów mikroorganizmów i nieprzereagowanego substratu lipidowego (kwasu rycynolowego).

Celem niniejszej pracy była próba wydzielenie poprzez adsorpcję  $\gamma$ -dekalaktonu (GDL) z podłoży biotransformacyjnych, w których substratem był olej rycynowy przekształcany do związku zapachowego za pośrednictwem drożdży *Yarrowia lipolytica*. Efektywność adsorpcji analizowano przy zastosowaniu dwóch adsorbentów: Amberlitu XAD-4 i wermikulitu. Spośród dwóch badanych adsorbentów skuteczniejszym w adsorpcji laktonu z podłoży, w okresie fazy wzrostu logarytmicznego drożdży (4. dzień biotransformacji), był Amberlit XAD-4. Po 10 min od wprowadzenia tego adsorbenta do środowiska reakcji możliwe było zaadsorbowanie ok.  $61 \pm 3\%$  laktonu. Początkowa szybkość adsorpcji GDL na Amberlicie XAD-4 wynosiła  $4,365 \times 10^{-3}$  g GDL/g adsorbenta/min i była ok. 2,8-krotnie wyższa w porównaniu z wermikulitem. Wydłużanie czasu biotransformacji (do 7 dni) skutkowało zmniejszeniem efektywności adsorpcji.

**Słowa kluczowe:**  $\gamma$ -dekalakton, adsorpcja, Amberlit XAD-4, wermikulit, *Yarrowia lipolytica*

**Wprowadzenie**

Gamma-dekalakton ( $C_{10}H_{18}O_2$ ) (GDL) to cykliczny ester o intensywnym, brzoskwiniowo-olejowym zapachu, wyczuwalnym nawet w stężeniu poniżej 5 mg/dm<sup>3</sup>.

---

Mgr inż. W. Wacławek, dr inż. J. Małajowicz, Katedra Chemii, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa.  
Kontakt: [jolanta\\_malaowicz@sggw.edu.pl](mailto:jolanta_malaowicz@sggw.edu.pl)

Enancjomer *R*  $\gamma$ -dekalaktonu naturalnie występuje w większości owoców, przy czym w sposób istotny kształtuje on aromat brzoskwiń, moreli i truskawek. Występowanie GDL odnotowuje się także w maśmie, mleku, serach, piwie, rumie, czerwonym i białym winie, mango czy śliwkach [7, 13]. Lakton jest objęty statusem GRAS (*Generally Recognized As Safe*) i uznawany za bezpieczny dodatek do żywności, dopuszczony przez FDA (*Food and Drug Administration*) – Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków [29]. Zatwierdzony przez Radę Europy dodatek  $\gamma$ -dekalaktonu do żywności to 20 ppm. Stosowanie tego związku zapachowego w przemyśle spożywczym ma na celu nadanie właściwego aromatu wyrobom czekoladowym, napojom, wyrobom piekarskim, gummy do żucia, deserom czy słodyczom [14]. W tab. 1. przedstawiono dane na temat zastosowania GDL do produkcji żywności.

Tabela 1. Wybrane przykłady zastosowania  $\gamma$ -dekalaktonu do produkcji żywności, odnotowane przez FEMA – Stowarzyszenie Producentów Aromatów i Ekstraktów USA

Table 1. Selected examples of using  $\gamma$ -decalactone in food production, as reported by FEMA – The Flavor and Extract Manufacturers Association of the United States

Kategoria żywności Food category	Stężenie $\gamma$ -dekalaktonu [ppm] Concentration of $\gamma$ -decalactone [ppm]
Napoje alkoholowe / Alcoholic drinks	2,65
Wyroby piekarskie / Bakery products	21,06
Ser / Cheese	13,70
Guma do żucia / Chewing gum	0,30
Mrożone przetwory mleczne / Frozen milk products	15,41
Gelaretki, puddingi / Jellies, puddings	7,36
Landrynk / Hard candy	0,67
Napoje bezalkoholowe / Alcohol-free drinks	8,04

GDL może być produkowany na drodze chemicznej lub biotechnologicznej [18]. Opisane w literaturze chemiczne metody jego syntezy najczęściej zawierają etap syntezy kwasu 4-hydroksydekanowego, który z łatwością cyklizuje do racemicznego  $\gamma$ -dekalaktonu [6, 8]. Udoskonalane od wielu lat metody biotechnologiczne bazują na procesie  $\beta$ -oksydacji kwasu rycynolowego lub jego estrów zachodzącym w peroksyzomach komórek mikroorganizmów [15]. Dotychczas w badaniach nad wydajną biosyntezą laktonu wykorzystywano m.in. takie mikroorganizmy, jak: *Yarrowia lipolytica* [12, 26, 27], *Pichia guilliermondii* [11], *Sporobolomyces odorus* [19], *Sporidiobolus salmonicolor* [21], *Sporidiobolus ruineni* [4] czy *Rhodotorula aurantiaca* [1], które hodowano na podłożach z dodatkiem m.in. oleju rycynowego.

Ważnym etapem produkcji związków zapachowych na drodze biotechnologicznej jest ich wydzielenie w możliwie najczystszej postaci z podłoża hodowlanego. Nie jest to proces łatwy, a szczególne trudności sprawia odzyskiwanie związków zapachowych,

które charakteryzują się wysoką lotnością oraz niską rozpuszczalnością. Ponadto medium hodowlane, w którym dane związki aromatyczne się znajdują, jest zazwyczaj bardzo złożone. W celu wydzielania związków zapachowych z podłoża stosowano dotychczas różne techniki, które polegały m.in. na procesach: ekstrakcji, permeacji, destylacji oraz adsorpcji. Często opisywaną w literaturze metodą jest ekstrakcja rozpuszczalnikami [10, 20]. Najczęściej stosowana jest ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz. Metoda ta nie sprawdza się jednak w przypadku heterogenicznych podłoży biotransformacyjnych. Obecność w podłożach fazy lipidowej (ma to miejsce w przypadku biotechnologicznej syntezy  $\gamma$ -dekalaktonu, gdzie substratem jest olej rycynowy) sprawia, że wraz z pożdanym produktem reakcji do fazy organicznej ekstrahowane są pozostałości substratów lipidowych. Inną stosowaną metodą wydzielania laktonów jest proces perwaporacji. Polega on na selektywnym transporcie składnika przez membranę, np. ceramiczną, o średnicy porów rzędu poniżej 5 nm. Perwaporacja zachodzi w łagodnych warunkach oraz umożliwia selektywne wydzielenie pożdanego związku [5]. Możliwe jest również zastosowanie bezpośredniej separacji produktu z podłoża hodowlanego poprzez adsorcję na węglu aktywnym, porowatym hydrofobowym polimerze lub porowatej żywicy. Takie rozwiązania próbowano już zastosować w skali laboratoryjnej, m.in. przy wyodrębnianiu związków zapachowych z grupy estrów [9, 18, 24] a także samego  $\gamma$ -dekalaktonu [2, 3]. Materiały porowe są powszechnie i chętnie stosowane z uwagi na ich właściwości, w tym głównie ich dużą powierzchnię właściwą, dużą porowatość, chlonność, nieznaczną aktywność chemiczną oraz dużą wytrzymałość mechaniczną i możliwość regeneracji. Należy jednak pamiętać, że adsorcja w fazie ciekłej, a z taką mamy do czynienia przy wyodrębnianiu  $\gamma$ -dekalaktonu z podłoża hodowlanego, jest dużo bardziej złożonym zjawiskiem niż adsorcja w fazie gazowej. Obecność częstek rozpuszczalnika i tworzenie miceli przez zaadsorbowane molekuły przyczynia się do wzrostu złożoności adsorbowanej cieczy. Ponadto na wydajność adsorpcji składnika z fazy ciekłej wpływają również takie czynniki jak: pH roztworu, rozpuszczalność adsorbowanego składnika w stosowanym rozpuszczalniku, temperatura, w której prowadzony jest proces czy samo stężenie adsorbenta. Wobec powyższego dobranie właściwego adsorbenta i warunków adsorpcji laktanu z wodnego podłoża biotransformacyjnego, celem uzyskania pożądanej wydajności procesu, wymaga przeprowadzenia wielu analiz. Niemniej jednak adsorcja uważana jest za obiecującą technikę ze względu na prostotę wykonania, dostępność materiałów, możliwą do osiągnięcia wysoką wydajność i stosunkowo niski koszt procesu [25].

Celem niniejszej pracy była próba wydzielania poprzez adsorcję  $\gamma$ -dekalaktonu (GDL) z podłoży biotransformacyjnych, w których substratem był olej rycynowy przekształcany do związku zapachowego za pośrednictwem drożdży *Yarrowia lipolytica*. Efektywność adsorpcji analizowano przy zastosowaniu dwóch adsorbentów: Amberlitu

XAD-4 (syntetycznego kopolimeru styrenu i diwinylobenzenu) i wermikulitu (naturalnego krzemianu warstwowego).

### Material i metody badań

Materiał doświadczalny stanowił szczep drożdży *Yarrowia lipolytica* KKP379 pozyskany z Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie oraz adsorbenty: Amberlit XAD-4 i wermikulit.

W celu oznaczenia poziomu adsorpcji GDL w układach modelowych do kolb stożkowych o obj. 100 cm<sup>3</sup> wprowadzano 0,25 g GDL ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich, Niemcy) rozpuszczonego w 10 cm<sup>3</sup> etanolu (96 %, POCH, Polska) oraz 15 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Kolby wstawiano na mieszadło magnetyczne celem dobrego wymieszania składników. Po 5 min mieszania pobierano próbki kontrolną, po czym do roztworu wprowadzano wybrany adsorbent w stężeniu 30 g/dm<sup>3</sup>. Po dodaniu adsorbentu kolby wstawiano na wytrząsarkę (IKA, Niemcy, 140 rpm) i w odstępach 10 min przez okres 1 h z roztworu pobierano próbki właściwe (1,5 cm<sup>3</sup>) do oznaczeń chromatograficznych.

Celem oznaczenia poziomu adsorpcji GDL w podłożach biotransformacyjnych prowadzono hodowlę drożdży *Yarrowia lipolytica*. Do namnożenia mikroorganizmów przygotowywano płynne podłoże namnażające YPG o składzie: ekstrakt drożdżowy (BTL, Polska) – 10 g/dm<sup>3</sup>, pepton (BTL, Polska) – 20 g/dm<sup>3</sup>, glukoza (Chempur, Polska) – 20 g/dm<sup>3</sup>. Drożdże ze skosów agarowych przeszczepiano do kolby kulistej płaskodennej zawierającej 50 cm<sup>3</sup> podłoża namnażającego. Hodowlę prowadzono przez 24 h w temp. 27 °C w inkubatorze (IKA, Niemcy) z wytrząsaniem, na poziomie 140 rpm. Po tym czasie 1 cm<sup>3</sup> inokulum zaszczepiano właściwe podłoże biotransformacyjne składające się z oleju rycynowego (Carl Roth, Niemcy) – 100 g/dm<sup>3</sup>, peptunu (BTL, Polska) – 20 g/dm<sup>3</sup> oraz Tweenu 80 (Acros Organics, Belgia) – 5 g/dm<sup>3</sup>. Biotransformację prowadzono przez 7 dni w temp. 27 °C, z wytrząsaniem na poziomie 140 rpm. W 4. i 7. dniu hodowli wykonywano badania poziomu adsorpcji gamma-dekalaktonu z podłoży.

We wskazanych dniach biotransformacji komórki drożdży oddzielano od podłoży biotransformacyjnych poprzez wirowanie (wirówka MPW 351, Polska, wirnik kątowy, 10 min, 10000 rpm). Supernatant zlewano znad osadu komórek drożdży i zakwaszano 10-procentowym kwasem solnym do obniżenia pH do wartości ok. 2 (kwas 4-hydroksydekanowy powstały w procesie  $\beta$ -oksydacji łatwiej cyklizuje w środowisku kwaśnym do  $\gamma$ -dekalaktonu). Po zakwaszeniu do każdego roztworu dodawano 100 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> alkoholu etylowego (zwiększenie rozpuszczalności laktanu). Roztwór umieszczało na mieszadle magnetycznym na 5 min, celem wymieszania i pobrania reprezentatywnej próbki kontrolnej (1,5 cm<sup>3</sup>). Następnie do podłoża wprowadzano wybrane adsorbenty: Amberlit XAD-4 lub wermikulit w ilości 30 g/dm<sup>3</sup>. Od tego mo-

mentu, w odstępach 10-minutowych, przez pół godziny pobierano próbki do oznaczeń chromatograficznych ( $1,5 \text{ cm}^3$ ).

Do analizy poziomu desorpcji GDL z adsorbentów oddzielano je od roztworów poprzez sączenie przez bibułę filtracyjną. Adsorbenty przenoszono do gilz ekstrakcyjnych i ekstrahowano trzykrotnie porcją  $20 \text{ cm}^3$  eteru dietylowego (POCH, Polska), po czym próbki poddawano analizie z zastosowaniem chromatografii gazowej (GC).

Do  $1,5 \text{ cm}^3$  pobieranych próbek dodawano  $20 \mu\text{l}$   $\gamma$ -undekalaktonu (standard wewnętrzny) oraz  $1,5 \text{ cm}^3$  chlorku metylenu jako ekstrahenta. Próbki ekstrahowano, a następnie analizowano za pośrednictwem GC (YL 6100 Young Lin Instrument, Korea Południowa, kolumna kapilarna BPX70  $60 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ ) w programie temperaturowym: przetrzymanie przez 1 min w temp.  $165^\circ\text{C}$ , kolejno przyrost temperatury od  $165$  do  $180^\circ\text{C}$  w tempie  $3^\circ\text{C}/\text{min}$  i ostateczny wzrost temperatury od  $180$  do  $205^\circ\text{C}$  w tempie  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ . Gazem nośnym w analizach był azot, temperatura detektora wynosiła  $280^\circ\text{C}$ , przepływ ustalono na poziomie  $1,1 \text{ cm}^3/\text{min}$ .

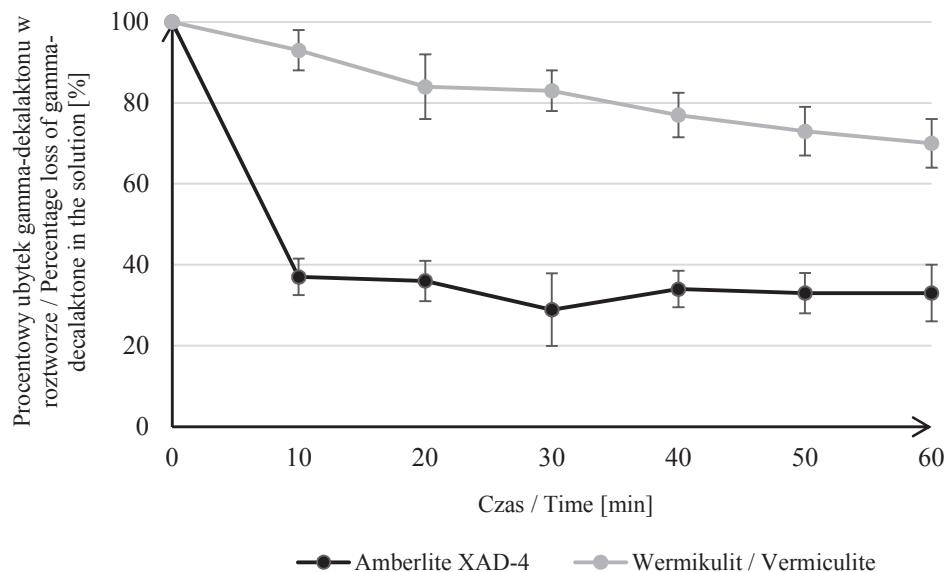
Wszystkie analizy wykonywano w 3 powtórzeniach. Wyniki poddano analizie statystycznej, obliczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya ( $p \leq 0,05$ ). Obliczenia wykonano w programie statystycznym Statistica 12,0.

## Wyniki i dyskusja

W badaniach nad adsorpcją GDL z podłoży biotransformacyjnych stosowano dwa adsorbenty o odmiennej budowie i właściwościach – wermikulit i Amberlit XAD-4. Pierwszy z nich jest naturalnym materiałem ilastym o warstwowej strukturze, z wieloma krystalicznymi przestrzeniami pełniącymi rolę porów. Jest to materiał tani i po-wszechnie dostępny, zwiększający swoją objętość od 8 do 30 razy w zależności od stosowanych warunków termicznych [16]. Amberlit XAD-4 to syntetyczny, makroporowy kopolimer styrenodiwinylbenzenu w postaci białych, półprzezroczystych perlek [30].

W pierwszym etapie badań przeanalizowano efektywność adsorpcji GDL z modelowych roztworów wodnych, w których stężenie laktanu wynosiło  $5 \text{ g}/\text{dm}^3$ , a stężenie adsorbentów –  $30 \text{ g}/\text{dm}^3$ . Zmniejszenie stężenia GDL w roztworze, wynikające z adsorpcji, analizowano przez 60 min, a próbki pobierano co 10 min. Wyniki przedstawiono na rys. 1.

W modelowym roztworze wodnym laktan adsorbował się znacznie skuteczniej na Amberlicie XAD-4. Ilość zaadsorbowanego związku sięgała poziomu ok.  $67 \pm 2,2 \%$ , co w przeliczeniu na masę stanowiło ok.  $3,91 \pm 0,31 \text{ g laktonu}/\text{dm}^3$ . Poprzez ilość za-adsorbowanego GDL rozumie się różnicę pomiędzy początkowym stężeniem związku w roztworze a jego zawartością finalną. W przypadku wermikulitu po 60 min zaadsorbowała się 30 % związku, czyli ok. 2,2-krotnie mniej. Ponadto przy zastosowaniu

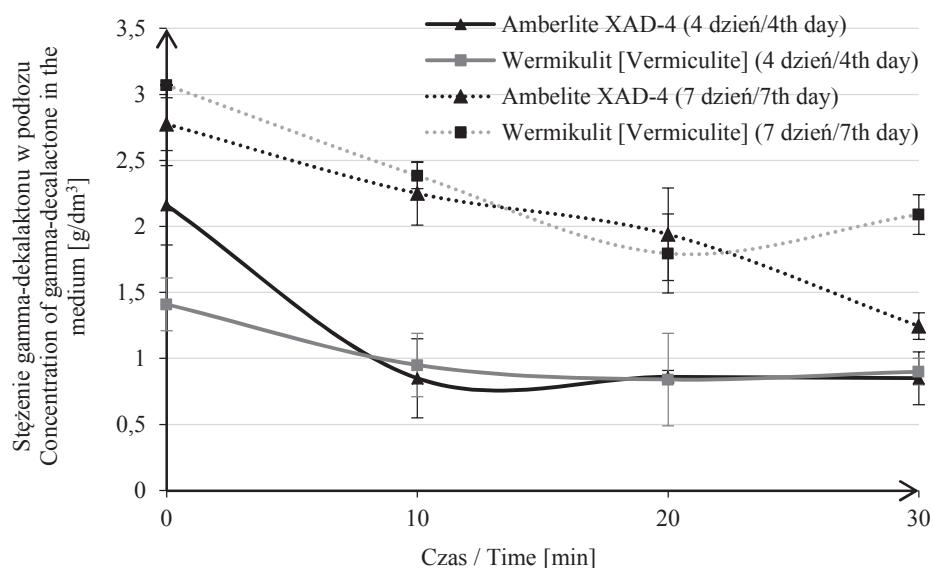


Rys. 1. Adsorpcja  $\gamma$ -dekalaktonu z modelowych roztworów wodnych prowadzona w temp. 25 °C  
Fig. 1. Adsorption of  $\gamma$ -decalactone from model water solutions carried out at 25 °C of temperature

Amberlitu XAD-4 po 40 min kontaktu osiągnięto stan równowagi. Według Li i wsp. [22] makroporowe, polimerowe adsorbenty, w porównaniu z klasycznymi/naturalnymi adsorbentami, takimi jak: silikażel, tlenki glinu czy węgiel aktywowany są znacznie bardziej skuteczne w procesie adsorpcji z uwagi na zróżnicowaną strukturę porów i właściwości fizykochemiczne.

W kolejnym etapie badań uwagę skupiono na adsorpcji  $\gamma$ -dekalaktonu z podłoży biotransformacyjnych, w których związek ten był syntetyzowany przez drożdże *Y. lipolytica* z oleju rycynowego. Zbadano efektywność adsorpcji laktonu przy zastosowaniu tego samego stężenia adsorbentów (30 g/dm<sup>3</sup>). Wyniki tego doświadczenia zamieszczone na rys. 2. Poziom adsorpcji podawano, operując masą adsorbowanego związku zapachowego, a nie jego stężeniem procentowym. Wynikało to ze zróżnicowania poziomu stężenia laktonu w poszczególnych hodowlach w podłożach biotransformacyjnych, z uwagi na nieco odmienną efektywność namnażania komórek drożdżowych i prowadzenia przez nie biotransformacji oleju rycynowego. Stężenie związku zapachowego w podłożach w 4. dniu biotransformacji wałało się od  $1,41 \pm 0,20$  g/dm<sup>3</sup> do  $2,16 \pm 0,33$  g/dm<sup>3</sup>, zaś w 7. dniu – od  $2,78 \pm 0,12$  g/dm<sup>3</sup> do  $3,07 \pm 0,19$  g/dm<sup>3</sup>. Plon biomasy w poszczególnych powtórzeniach zawierał się w granicach 5–8,7 g s.s./dm<sup>3</sup>. Na podstawie wyników adsorpcji z 4. dnia biotransformacji (faza

wzrostu logarytmicznego drożdży) wykazano, że z perspektywy wiązania się laktonu na powierzchni adsorbentów istotne znaczenie miało pierwsze 10 min reakcji (rys. 2). W tym okresie efektywniejsza była adsorpcja GDL za pośrednictwem Amberlitu XAD-4. Zaadsorbowało się na nim ok.  $61 \pm 3\%$  laktonu (zmniejszenie stężenia GDL z poziomu  $2,16 \pm 0,33\text{ g/dm}^3$  do  $0,85 \pm 0,28\text{ g/dm}^3$ ), czyli ponad dwukrotnie więcej niż na wermikulicie (ok.  $33 \pm 4\%$ , zmniejszenie stężenia GDL z  $1,41 \pm 0,20\text{ g/dm}^3$  do  $0,95 \pm 0,24\text{ g/dm}^3$ ). Wyniki te były zgodne z danymi adsorpcji GDL z modelowych roztworów (rys. 1), jednak różnica dotyczyła czasu, po którym osiągano stan równowagi adsorpcji – w przypadku roztworów biotransformacyjnych po 4. dniu biotransformacji było to 10 min.



Rys. 2. Adsorpcja  $\gamma$ -dekalaktonu z podłoży biotransformacyjnych po 4 i 7 dniach biotransformacji, prowadzona w temp.  $25^\circ\text{C}$

Fig. 2. Adsorption of  $\gamma$ -decalactone from biotransformation media after 4 and 7 days of biotransformation carried out at  $25^\circ\text{C}$  of temperature

Próby adsorpcji GDL z podłoży po 7 dniach biotransformacji (faza stacjonarna wzrostu drożdży) (rys. 2) wykazały nieznacznie niższą efektywność tego procesu w przypadku Amberlitu XAD-4. Poziom adsorpcji związku zapachowego wynosił ok. 55 %. W przypadku wermikulitu wydajność wiązania laktonu na powierzchni adsorbenta wzrosła do ok. 42 %. W tych reakcjach w ciągu 30 min od dodania adsorbentów nie osiągnięto jednak stanu równowagi. Przypuszcza się, że spadek efektywności adsorpcji GDL przez Amberlit XAD-4 w podłożu po 7 dniach biotransformacji może

wynikać ze wzrostu stężenia w podłożu produktów metabolizmu drożdży, a także samego kwasu rycynolowego, uwalnianego wskutek hydrolizy oleju rycynowego. Wysoce prawdopodobne jest, że związki te adsorbowały się na Amberlicie i pogarszały wydajność adsorpcji, mimo wyższego stężenia samego GDL w podłożu (w porównaniu do 4. dnia biotransformacji).

Negatywny wpływ składników podłożu na proces adsorpcji odnotowali Alchihab i wsp. [2]. Naukowcy prowadzili badania nad zastosowaniem makroporowatych żywic Macronet 100, 102, 202 w adsorpcji  $\gamma$ -dekalaktonu z podłoży biotransformacyjnych, do których żywice wprowadzane były na wstępie biotransformacji. Wymienieni autorzy zaobserwowali, że poziom adsorpcji laktonu z bulionu hodowanego drożdży *Rhodotorula aurantiacana* był niższy w stosunku do odnotowanego w modelowych roztwórach wodnych. Różnicę tę przypisywali obecności w pożywce oleju rycynowego i biomasy drożdży, która według nich zaadsorbowała część związku.

Uzyskanie pełniejszego obrazu kinetyki adsorpcji z podłoży biotransformacyjnych było możliwe po określeniu początkowej szybkości adsorpcji w każdym z nich (tab. 2).

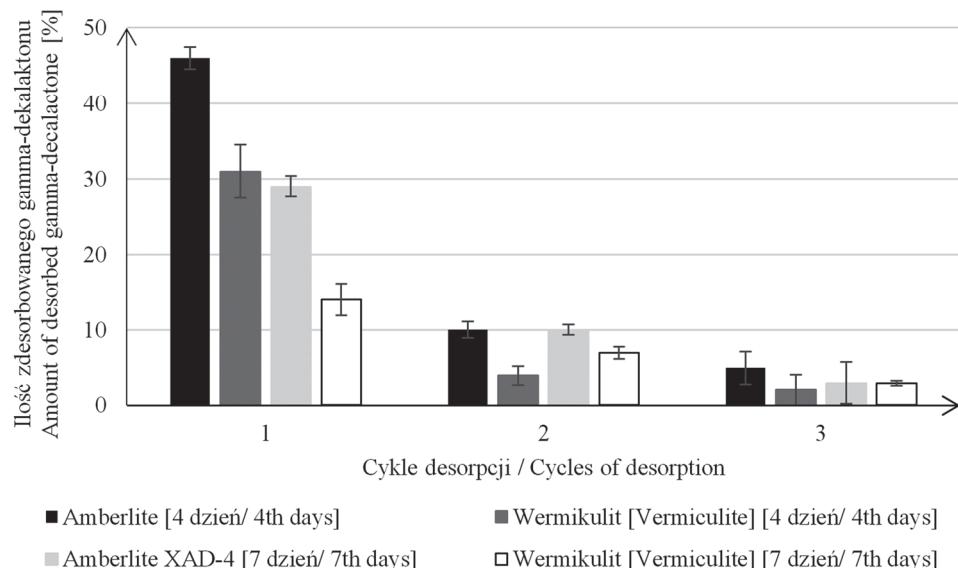
Tabela 2. Początkowa szybkość adsorpcji  $\gamma$ -dekalaktonu na badanych adsorbentach z podłoży po 4 i 7 dniach biotransformacji

Table 2. Initial adsorption rate of  $\gamma$ -decalactone on tested adsorbents from mediums after 4 and 7 days of biotransformation

Wyszczególnienie Item	Podłoża biotransformacyjne / Biotransformation mediums			
	po 4 dniach biotransformacji after 4 days of biotransformation		po 7 dniach biotransformacji after 7 days of biotransformation	
	Amberlit XAD-4 Amberlite XAD-4	Wermikulit Vermiculite	Amberlit XAD-4 Amberlite XAD-4	Wermikulit Vermiculite
Początkowe stężenie $\gamma$ -dekalaktonu Initial concentration of $\gamma$ -decalactone [g/dm <sup>3</sup> ]	2,16 ± 0,33	1,41 ± 0,20	2,78 ± 0,54	3,07 ± 0,2
Zaadsorbowana ilość $\gamma$ -dekalaktonu po 10 min Adsorbed quantity of $\gamma$ - decalactone after 10 min [g/dm <sup>3</sup> ]	1,31 ± 0,1	0,46 ± 0,22	0,53 ± 1,48	0,69 ± 1,32
Początkowa szybkość adsorpcji Initial adsorption rate $\gamma$ -dekalakton [g]/(adsorbent [g] × min) $\gamma$ -decalactone [g]/(adsorbent [g] × min)	$4,365 \times 10^{-3}$	$1,535 \times 10^{-3}$	$1,735 \times 10^{-3}$	$2,28 \times 10^{-3}$

Potwierdzono, że po 4 dniach biotransformacji wyższe (ok. 2,8-krotnie) tempo adsorpcji GDL wykazywał Amberlit XAD-4 (tab. 2). Tendencja ta była odwrotna w podłożach po 7 dniach biotransformacji, w których początkowa szybkość adsorpcji była większa w próbach z wermikulitem (ok. 1,3-krotnie). Do wyższej początkowej szybkości adsorpcji na wermikulicie w podłożu z 7. dnia biotransformacji przyczynił się znaczący wzrost stężenia laktonu w supernatancie. Wydłużenie biotransformacji skutkowało bowiem ponad 2-krotnie większym stężeniem GDL w tym podłożu, co miało z całą pewnością wpływ na bardziej efektywny przebieg procesu adsorpcji.

Amberlit XAD-4 i wermikulit testowano także pod względem desorpcji GDL. W każdym z 3 przeprowadzonych cykli ekstrakcji  $\gamma$ -dekalakton desorbował się z powierzchni adsorbenta. Najwięcej laktonu wyodrębniano w pierwszym cyklu ekstrakcji. Desorpcaja z adsorbentów użytych w podłożach z 4-dniowych reakcji biotransformacji przebiegała efektywniej w stosunku do adsorbentów z podłoży po 7-dniowej biotransformacji (rys. 3). W przypadku tych pierwszych poziom zdesorbowanego laktonu wynosił ok.  $61 \pm 14\%$  w próbkach z Amberlitem XAD-4 oraz  $37 \pm 6\%$  – z wermikulitem. W podłożach po 7 dniach biotransformacji stężenie laktonu wyekstrahowanego z powierzchni Amberlitu XAD-4 oraz wermikulitu wynosiło odpowiednio:  $42 \pm 12\%$  oraz  $25 \pm 5\%$ .



Rys. 3. Desorpcaja  $\gamma$ -dekalaktonu z Amberlite XAD-4 i wermikulitu przy zastosowaniu trzech cykli ekstrakcji

Fig. 3. Desorption of  $\gamma$ -decalactone from Amberlite XAD-4 and vermiculite using three extraction cycles

Niższe stężenie zdesorbowanego po 7 dniach biotransformacji laktonu z adsorbentów stosowanych w podłożach może być potwierdzeniem obecności na adsorbentach również innych molekuł, które ograniczają zarówno zdolności adsorpcyjne, jak i desorpcyjne laktonu. Luboch i wsp. [23] zwracają bowiem uwagę, że adsorpcja nie przebiega na całej powierzchni adsorbenta; z reguły czynna jest tylko część powierzchni, tzw. centra aktywne. Niekiedy stwierdza się istnienie kilku centrów zdolnych do selektywnego oddziaływanego z określonymi molekułami chemicznymi. Zjawiska tego typu odgrywają kluczową rolę w procesach adsorpcyjno-desorpcyjnych.

## Wnioski

1. Gamma-dekalakton można wydzielać z podłoży biotransformacyjnych, bazując na zjawisku adsorpcji.
2. Wydzielanie  $\gamma$ -dekalaktonu z podłoży biotransformacyjnych po 4 dniach reakcji przebiegało z porównywalną skutecznością, jak z roztworów modelowych. Po 10 min od wprowadzenia adsorbenta do środowiska reakcji możliwe było zaadsorbowanie ok.  $61 \pm 3\%$  laktonu przy zastosowaniu Amberlitu XAD-4 i ok.  $33 \pm 4\%$  przy użyciu wermikulitu.
3. Spośród dwóch badanych adsorbentów: Amberlitu XAD-4 i wermikulitu, skuteczniejszym w adsorpcji laktonu z podłoża biotransformacyjnego w okresie fazy wzrostu logarytmicznego drożdży (4. dzień hodowli) był Amberlit XAD-4. Początkowa szybkość adsorpcji GDL z zastosowaniem tego adsorbenta wynosiła  $4,365 \times 10^{-3}$  g GDL/g adsorbenta/min i była ok. 2,8-krotnie wyższa względem wermikulitu.
4. Wydłużenie czasu biotransformacji (do 7 dni) może przyczyniać się do zmniejszenia efektywności adsorpcji GDL. Zależność tę zaobserwowano po zastosowaniu Amberlitu XAD-4. Wzrost w podłożu stężenia produktów metabolizmu drożdży, a także kwasu rycynolowego, będącego produktem hydrolizy oleju rycynowego (substratu biotransformacji), może przyczyniać się do częściowej adsorpcji tych związków na porowatej strukturze adsorbenta i zmniejszać wydajność adsorpcji.
5. Stosowane adsorbenty charakteryzowały się zdolnościami desorpcyjnymi. W każdym z trzech przeprowadzonych cykli ekstrakcji  $\gamma$ -dekalakton desorbował się z powierzchni adsorbenów. Desorpcja z adsorbentów użytych w podłożach z 4-dniowych reakcji biotransformacji przebiegała efektywniej w stosunku do adsorbentów z podłoży po 7-dniowej biotransformacji. W przypadku tych pierwszych poziom zdesorbowanego laktonu wynosił ok.  $61 \pm 14\%$  dla Amberlitu XAD-4 oraz  $37 \pm 6\%$  dla wermikulitu. W podłożach po 7 dniach biotransformacji stężenie laktonu wyekstrahowanego z powierzchni adsorbenta wynosiło  $42 \pm 12\%$  dla Amberlitu XAD-4 oraz  $25 \pm 5\%$  dla wermikulitu.

## Literatura

- [1] Alchihab M., Destain J., Aguedo M., Majad L., Ghalfi H., Wathélet J.P., Thonart P.: Production of gamma-decalactone by a psychrophilic and a mesophilic strain of the yeast *Rhodotorula aurantiaca*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2009, 158 (1), 41-50.
- [2] Alchihab M., Aldric J.M., Aguedo M., Destain J., Wathélet J.P., Thonart P.: The use of macronet resins to recover  $\gamma$ -decalactone produced by *Rhodotorula aurantiaca* from the culture broth. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, 37, 167-172.
- [3] Alchihab M., Destain J., Aguedo M., Wathélet J.P., Thonart P.: The utilization of gum tragacanth to improve the growth of *Rhodotorula aurantiaca* and the production of  $\gamma$ -decalactone in large scale. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2010, 162, 233-241.
- [4] Blin-Perrin C., Molle D., Duffose L., Le-Quere J.L., Viel C., Mauvais G., Feron G.: Metabolism of ricinoleic acid into  $\gamma$ -decalactone:  $\beta$ -oxidation and long chain acyl intermediates of ricinoleic acid in the genus *Sporidiobolus* sp. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, 188, 69-74.
- [5] Bluemke W., Schrader J.: Integrated bioprocess for enhanced production of natural flavors and fragrances by *Ceratocystis moniliiformis*. *Biomol. Eng.*, 2001, 17, 137-142.
- [6] Braga A., Belo I.: Production of  $\gamma$ -decalactone by *Yarrowia lipolytica*: Insights into experimental conditions and operating mode optimization. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2015, 90, 559-565.
- [7] Burdock G.A.: Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. 6<sup>th</sup> ed. CRC Press, Boca Raton 2009.
- [8] Cossy J., Bargiggia F., Bouz S.: Tandem cross-metathesis/hydrogenation/cyclization reactions by using compatible catalysts. *Org. Lett.*, 2003, 5, 459-462.
- [9] Diban N., Ruiz G., Urtiaga A., Ortiz I.: Granular activated carbon for the recovery of the main pear aroma compound: Viability and kinetic modelling of ethyl-2,4-decadienoate adsorption. *J. Food Eng.*, 2007, 78, 1259-1266.
- [10] Dufossé L., Feron G., Mauvais G., Bonnairme P., Durand A., Spinnler H.: Production of gamma-decalactone and 4-hydroxydecanoic acid in the genus *Sporidiobolus*. *J. Ferment. Bioeng.*, 1998, 86, 169-173.
- [11] Endrizzi A., Awade A.C., Belin J.M.: Presumptive involvement of methyl ricinoleate  $\beta$ -oxidation in the production of  $\gamma$ -decalactone by the yeast *Pichia guilliermondii*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1993, 114 (2), 153-159.
- [12] Fickers P., Benetti P.H., Waché Y., Marty A., Mauersberger S., Smit M.S., Nicaud J.M.: Hydrophobic substrate utilisation by the yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications. *FEMS Yeast Res.*, 2005, 5, 527-543.
- [13] Gawdzik B., Kamizela A., Szyszkowska A.: Laktony o właściwościach sensorycznych. *Chemik*, 2015, 69 (6), 342-349.
- [14] Gopinath M., Vijayakumar L., Dhanasekar R., Viruthagiri T.: Microbial biosynthesis of  $\gamma$ -decalactone and its applications – a review. *Glob. J. Biotechnol. Biochem.*, 2008, 3 (2), 60-68.
- [15] Gomes N., Braga A., Teixeira J.A., Belo I.: Impact of lipase mediated hydrolysis of castor oil on  $\gamma$ -decalactone production by *Yarrowia lipolytica*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2013, 90, 1131-1137.
- [16] Guan S., Rong S., Wang M., Cai B., Li Q.: Enhanced biotransformation productivity of gamma-decalactone from ricinoleic acid based on the expanded vermiculite delivery system. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, 29 (7), 1071-1077.
- [17] Ismadji S., Bhatia S.K.: Adsorption of flavour esters on granular activated carbon. *Can. J. Chem. Eng.*, 2000, 78, 892-901.
- [18] Krzyckowska J., Bialecka-Florjanczyk E., Stolarzewicz I.: Biotechnologiczne metody otrzymywania substancji zapachowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 3 (64), 5-18.
- [19] Lee S.L., Lin S.J., Chou C.C.: Production of  $\gamma$ -decalactone by *Sporobolomyces odorus* in jar fermentors as affected by pH, aeration and fed-batch technique. *J. Ferment. Bioeng.*, 1995, 80 (2), 195-199.

- [20] Lee S.L., Cheng H.Y., Chen W.C., Chou C.C.: Production of  $\gamma$ -decalactone from ricinoleic acid by immobilized cells of *Sporidiobolus salmonicolor*. *Process Biochem.*, 1998, 33 (4), 453-459.
- [21] Lee S.L., Cheng H.Y., Chen W.C., Chou C.C.: Effect of physical factors on the production of  $\gamma$ -decalactone by immobilized cells of *Sporidiobolus salmonicolor*. *Process Biochem.*, 1999, 34, 845-850.
- [22] Li A., Zhang Q., Chen J., Fei Z., Long C., Li W.: Adsorption of phenolic compounds on Amberlite XAD-4 and its acetylated derivative MX-4. *React. Funct. Polym.*, 2001, 49 (3), 225-233.
- [23] Luboch E., Wagner-Wysiecka E., Jamrógiewicz M., Szczygelska-Tao J., Biernat J.: Determination of the chemical structure of potential organic impurities occurring in the drug substance opipramol. *Pharmazie*, 2010, 65 (4), 239-244.
- [24] Medeires A.B.P., Pandey A., Vandenberghe L.P.S., Pastore G.M., Soccol C.R.: Production and recovery of aroma compounds produced by solid-state fermentation using different adsorbents. *Food Technol. Biotechnol.*, 2006, 44 (1), 47-51.
- [25] Mouzdaire Y.E., Elmchaouri A., Mahboub R., Korili S.A.: Synthesis of nano-layered vermiculite of low density by thermal treatment. *Powder Technol.*, 2009, 189, 2-5.
- [26] Waché Y., Aguedo M., Choquet A., Gatfield I.L., Nicaud J.-M., Belin J.M.: Role of  $\beta$ -oxidation enzymes in  $\gamma$ -decalactone production by the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, 67 (12), 5700-5704.
- [27] Waché Y., Aguedo M., LeDall M.T., Nicaud J.-M., Belin J.M.: Optimization of *Yarrowia lipolytica's*  $\beta$ -oxidation pathway for  $\gamma$ -decalactone production. *J. Mol. Catal. B – Enzym.*, 2002, 19 (20), 347-351.
- [28] Wache Y., Aguedo M., Nicaud J.M., Belin J.M.: Catabolism of hydroxyacids and biotechnological production of lactones by *Yarrowia lipolytica*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, 61 (5), 393-404.
- [29] Zope D.D., Patnekar S.G., Kanetkar V.R.: Novel synthesis of flavour quality  $\gamma$ -lactones. *Flavour Frag. J.*, 2006, 21 (3), 395-399.
- [30] Xu Z., Zhang Q., Chen J., Wang L., Anderson G.K.: Adsorption of naphthalene derivatives on hypercrosslinked polymeric adsorbent. *Chemosphere*, 1999, 38 (9), 2003-2011.

#### APPLYING SOME SELECTED ADSORBENTS TO SEPARATE GAMMA-DECALACTONE PRODUCED BY *YARROWIA LIPOLYTICA* FROM CULTURE BROTH

##### Summary

Gamma-decalactone (GDL) is a cyclic ester with an intense peach-oil smell, detectable at a concentration below 5 mg/dm<sup>3</sup>. This compound is applied in the food industry to give appropriate organoleptic properties to products such as: beverages, bakery products, desserts, sweets or chewing gums. GDL comes under the GRAS status (*Generally Recognized As Safe*) and it is considered to be a safe food additive. Lactone can be produced using chemical or biotechnological methods. The increasing consumer awareness and the current trend towards bio-products contribute to the popularisation of biotechnological synthesis of the  $\gamma$ -decalactone. A difficulty in the production of GDL with the participation of microorganisms is its separation from the biotransformation medium, which is a mixture of metabolites of microorganisms and an unreacted lipid substrate (ricinoleic acid).

The objective of the research study was an attempt to separate through adsorption the  $\gamma$ -decalactone (GDL) from biotransformation media, where a substrate was castor oil transformed into a fragrant compound by the *Yarrowia lipolytica* yeast. The adsorption efficiency was analysed with the use of two adsorbents: Amberite XAD-4 and vermiculite. Of the two adsorbents tested, more effective when adsorbing

lactone from the media, during the logarithmic growth phase of yeast (the 4<sup>th</sup> day of biotransformation), was Amberlite XAD-4. Circa 61 ± 3 % of lactone could be absorbed 10 minutes after the adsorbent had been introduced into the reaction medium. The initial GDL adsorption rate on the Amberite XAD-4 was  $4.365 \times 10^{-3}$  g GDL/g adsorbent/min and it was about 2.8 times higher than that on the vermiculite. The extension of biotransformation time (up to 7 days) resulted in the decrease in the adsorption efficiency.

**Key words:**  $\gamma$ -decalactone, adsorption, Amberlite XAD-4, vermiculite, *Yarrowia lipolytica* 

KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, WERONIKA ŚLIŻEWSKA

**JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA OWOCÓW SUSZONYCH PAKOWANYCH  
HERMETYCZNIE I SPRZEDAWANYCH LUZEM**

**S t r e s z c z e n i e**

Popyt na owoce suszone wzrasta zarówno na rynku polskim, jak i na rynku globalnym. Na świecie produkuje się ich ok. 2,5 mln ton (głównie rodzynek), w Polsce ok. 8 tys. ton (głównie jabłek i śliwek). Owoce suszone sprzedawane w sklepach są często zanieczyszczone drobnoustrojami mezofilnymi, które powstają na skutek nieodpowiedniego przechowywania surowca oraz niewłaściwej obróbki technologicznej.

Celem pracy była ocena stanu mikrobiologicznego owoców suszonych dostępnych na polskim rynku oraz określenie wpływu opakowania na jakość mikrobiologiczną tych produktów. Badaniom poddano owoce hermetycznie zapakowane oraz sprzedawane luzem. Analiza mikrobiologiczna obejmowała określenie ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych, ogólnej liczby bakterii przetrwalnikujących tlenowych oraz pleśni, gronkowców koagulazo-dodatnich, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym bakterii z grupy *coli*, *Salmonella* oraz *Shigella*. Badania mikrobiologiczne prowadzono metodą hodowlaną zgodnie z normami PN-EN ISO. Identyfikacji grzybów strzępkowych dokonano na podstawie obserwacji mikroskopowych oraz makroskopowych. Stwierdzono, że dominującą mikroflorą zanieczyszczającą owoce suszone były bakterie mezofilne oraz pleśnie z rodzaju *Aspergillus*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono brak gronkowców koagulazo-dodatnich oraz bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella*. Najbardziej zanieczyszczonymi produktami były rodzynki oraz daktyle. Najczystszymi produktami okazały się morele, zarówno pakowane przez producenta, jak i sprzedawane luzem, podobnie – żurawina i śliwki suszone. Generalnie jednak stwierdzono niski poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego badanych owoców suszonych oraz niższy poziom zanieczyszczenia owoców pakowanych hermetycznie niż sprzedawanych luzem.

**Słowa kluczowe:** owoce suszone, mikroorganizmy, jakość mikrobiologiczna, opakowanie

**Wprowadzenie**

Owoce suszone zyskują coraz większą popularność nie tylko na rynku polskim, ale i na rynku globalnym. Na świecie produkuje się ok. 2,5 mln ton suszonych owo-

---

Dr hab. inż. K. Śliżewska, prof. PŁ, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, mgr inż. W. Śliżewska, Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej, ul. Stefanowskiego 4/10, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywieni, Politechnika Łódzka, 90-530 Łódź.  
Kontakt: katarzyna.slizewska@p.lodz.pl

ców, najwięcej w Turcji, Iranie, USA, Arabii Saudyjskiej i Chinach. W Polsce wielkość produkcji wynosi ok. 8 tys. ton. Struktura gatunkowa suszonych owoców na świecie i w Polsce też znacznie się różni. Na świecie ponad 50 % suszu owocowego stanowią winogrona (rodzynki), następnie daktyle, śliwki, morele, figi. W Polsce suszy się głównie jabłka i śliwki [13].

Głównymi zaletami owoców suszonych są przede wszystkim: skondensowana zawartość substancji odżywczych, szeroka dostępność, możliwość wielorakiego zastosowania, stosunkowo niska cena oraz dłuższy czas przechowywania bez istotnych zmian jakościowych w stosunku do owoców świeżych. To właśnie trwałość wyrobów suszonych wpłynęła na rozwój tej gałęzi przemysłu.

Z uwagi na sezonowość produkcji owoców, która uniemożliwia spożywanie niektórych owoców w ciągu całego roku w stanie świeżym, popyt na utrwalone produkty spożywcze wzrasta. Również w nowych zaleceniach dietetycznych promuje się różnorodność posiłków w ciągu dnia, co przyczynia się do rozwoju tej gałęzi przemysłu.

Na mikroflorę obecną na owocach wpływa wiele czynników, takich jak klimat panujący w miejscu uprawy, skład chemiczny, sposób uprawy, warunki pogodowe występujące podczas procesu wzrostu oraz dojrzewania [5, 11]. Z drugiej strony każdy rodzaj owoców stanowi niszę ekologiczną, w której znajdują się odpowiednie zespoły mikroorganizmów zmieniające się w czasie.

Mikroflora występująca na owocach pochodzi zazwyczaj z powietrza; przenoszą ją owady oraz pyły unoszące się w atmosferze. Czynnikiem wpływającym na adaptację do warunków panujących na powierzchni owocu jest wytworzenie mechanizmów obronnych, takich jak produkcja związków barwnych, chroniących przed promieniowaniem UV oraz zmniejszone zapotrzebowanie na wodę i substancje odżywcze. Na powierzchni owoców występują głównie mikrokoki produkujące barwniki, podobnie jak zarodniki pleśni oraz przetrwalniki odporne na niesprzyjające warunki dzięki swojej budowie [1, 2].

Duży wpływ na mikroflorę owoców ma również gleba, której ogólny stopień zanieczyszczenia drobnoustrojami może dochodzić do wartości  $10^9$  komórek w 1 g. W glebie mogą występować wszystkie grupy fizjologiczne mikroorganizmów reprezentowane przez organizmy tlenowe i beztlenowce oraz formy wegetatywne i przetrwalne. Dominujący jest udział odmian rodzaju *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus* i in., a także drożdże, grzybów strzępkowych (pleśni) i promieniowców [6].

Podstawowe, pierwotne zanieczyszczenia owoców są funkcją rodzaju rośliny, środowiskowych warunków wegetacji, sposobu transportu, warunków przechowywania itp. Wśród form zanieczyszczających dominują drożdże należące do rodzajów *Saccharomyces*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida* i in., pleśnie z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Geotrichum* i in., bakterie fermentacji mlekkowej, bakterie octowe oraz bakterie z rodzajów *Bacillus*,

*Pseudomonas, Proteus* [6]. Zanieczyszczenia pierwotne owoców mogą łatwo namnażać się na skutek nieodpowiedniego przechowywania surowca oraz niewłaściwej obróbki technologicznej.

Celem pracy była ocena stanu mikrobiologicznego owoców suszonych dostępnych na polskim rynku oraz określenie wpływu opakowania na jakość mikrobiologiczną tych produktów.

### Materiały i metody badań

Badaniom poddano 6 prób owoców suszonych dostępnych w sprzedaży w opakowaniach hermetycznych oraz 6 – sprzedawanych luzem. Opis badanych produktów przedstawiono w tab. 1. (owoce suszone pakowane hermetycznie) oraz w tab. 2. (owoce suszone sprzedawane luzem).

Tabela 1. Owoce suszone pakowane hermetycznie

Table 1. Hermetically packaged dried fruits

Produkt Product	Opis produktu na podstawie danych umieszczonych na opakowaniu Product description based on data on packaging
Śliwki Plums	Śliwki suszone bez pestek / Dried pitted plums. Substancja konserwująca / Preservative: E202 – sorbinian potasu / potassium sorbate Kraj pochodzenia / Country of origin: Chile
Morele Apricots	Morele suszone bez pestek / Dried pitted apricots. Substancja konserwująca / Preservative: E220 – dwutlenek siarki / sulphur dioxide Kraj pochodzenia / Country of origin: Turcja / Turkey
Rodzynki Raisins	Rodzynki sułtańskie / Sultan raisins. Skład: rodzynki 99,5 %, olej bawełniany i/lub słonecznikowy / Composition: raisins 99.5 %, cotton and/or sunflower oil Kraj pochodzenia / Country of origin: Turcja / Turkey
Daktyle Dates	Daktyle bez pestek / Pitted dates Kraj pochodzenia / Country of origin: Pakistan
Żurawina Cranberry	Żurawina słodzona, suszona, całe owoce / Cranberry sweetened, dried, whole fruit Składniki: żurawina 51 %, cukier, olej słonecznikowy / Ingredients: cranberry 51 %, sugar, sunflower oil Kraj pochodzenia / Country of origin: USA
Figi Figs	Figi suszone / Dried figs Kraj pochodzenia / Country of origin: Turcja / Turkey

Analiza mikrobiologiczna owoców suszonych obejmowała określenie: ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych (na agarze z ekstraktem drożdżowym, glukozą i peptonem PCA, Plate Count Agar), ogólnej liczby bakterii przetrwalników tlenowych (na podłożu PCA po poddaniu próbki tzw. szokowi termiczemu (po ogrzewaniu w temp. 80 °C przez 10 min), drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* (na agarze z fioletkiem, czerwienią, żółcią i glukozą VRBG, Violet Red Bile Glucose Agar),

bakterii z grupy *coli* i liczby β-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* (na podłożu Chromocult® Tryptone Bile X-glucuronide Agar), bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* (na podłożu SS, *Salmonella-Shigella* Agar), liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (na podłożu Baird-Parkera z żółtkiem jaja i tellurynem potasu), liczby grzybów strzępkowych (na podłożu Sabouraud).

Tabela 2. Owoce suszone sprzedawane luzem

Table 2. Dried fruit sold by weight

Produkt Product	Opis produktu na podstawie opracowania własnego Product description based on the authors' own study
Śliwki Plums	Skład: śliwki, E202 – sorbinian potasu Composition: plums, E202 – potassium sorbate Kraj pochodzenia / Country of origin: Chile
Morele Apricots	Skład: morele, substancja konserwująca: dwutlenek siarki Composition: apricots, preservative: sulphur dioxide Kraj pochodzenia / Country of origin: Turcja / Turkey
Rodzynki Raisins	Skład: rodzynki, olej słonecznikowy, konserwant: E220 – dwutlenek siarki Composition: raisins, sunflower oil, preservative: E220 – sulphur dioxide Kraj pochodzenia / Country of origin: Chile
Daktyle Dates	Skład: daktyle / Composition: dates Kraj pochodzenia / Country of origin: Iran
Żurawina Cranberry	Skład: żurawina 55 %, cukier trzcinowy 44,5 %, olej słonecznikowy Composition: cranberry 55 %, cane sugar 44.5 %, sunflower oil Kraj pochodzenia / Country of origin: USA
Figi Figs	Skład: figi suszone, konserwant: dwutlenek siarki Composition: dried figs, preservative: sulphur dioxide Kraj pochodzenia / Country of origin: Turcja / Turkey

Przygotowywano 10-krotne rozcieńczenia w płynie fizjologicznym, a następnie wysiewano na płytka Petriego. Badania mikrobiologiczne prowadzono metodą hodowlaną zgodnie z normami PN-EN ISO [7 - 10].

Identyfikacji grzybów strzępkowych dokonywano na podstawie obserwacji mikroskopowych oraz makroskopowych wzrostu w hodowlach płytowych.

### Wyniki i dyskusja

Owoce suszone sprzedawane w sklepach są często zanieczyszczone drobnoustrojami mezofilnymi. Zanieczyszczenia pierwotne mogą łatwo namnażać się na skutek nieodpowiedniego przechowywania surowca oraz niewłaściwej obróbki technologicznej. W procesie suszenia panują warunki niesprzyjające drobnoustrojom (wysoka temperatura utrzymywana przez długi czas), stąd większość form wegetatywnych, zwłaszcza w okresie logarytmicznego wzrostu, ulega wyginięciu. Parametry procesu mogą

jednak przetrwać mikroorganizmy, które wykształciły mechanizmy obronne, powodujące ich oporność na wysokie temperatury. Przykładem są przetrwalniki bakteryjne, których wysoka ciepłooporność wynika z ich budowy oraz składu chemicznego. Podczas gdy komórki wegetatywne giną po 10 min ogrzewania w temp. 80 °C, endospory wytrzymują nawet wielogodzinne ogrzewanie. W swojej budowie zawierają bowiem do 15 % wody oraz kwas dipikolinowy, którego kompleksy z jonami wapnia pozwalają im na przetrwanie procesu suszenia [4]. Również zarodniki grzybów strzępkowych i mykotoksyny, które mogą stanowić zanieczyszczenie owoców suszonych, są odporne na działanie wysokiej temperatury [12].

#### *Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych i przetrwalników sporulujących*

Na podstawie otrzymanych wyników (tab. 3) stwierdzono zróżnicowaną liczbę bakterii, zarówno mezofilnych, jak i przetrwalników sporulujących w analizowanych owocach suszonych. Ogólna liczba bakterii mezofilnych obecna w owocach pakowanych wynosiła  $1,1 \times 10^2 \div 3,1 \times 10^8$  jtk/g. Ogólna liczba bakterii mezofilnych obecna w owocach sprzedawanych na wagę wynosiła natomiast  $2,8 \times 10^2 \div 1,4 \times 10^9$  jtk/g. Najwyższą liczbę bakterii stwierdzono w rodzynkach sprzedawanych luzem ( $1,4 \times 10^9$  jtk/g), a najniższą –

Tabela 3. Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych i przetrwalników sporulujących w badanych owocach  
Table 3. Total count of mesophilic and sporulating microorganisms in fruits tested

Produkt / Product		Liczba drobnoustrojów [jtk/g] Count of microorganisms [CFU/g]	
		mezofilnych mesophilic	przetrwalników sporulujących
Śliwki Plums	pakowane / packaged	$3,6 \times 10^4$	nb
	na wagę / by weight	$1,8 \times 10^5$	nb
Morele Apricots	pakowane / packaged	$7,8 \times 10^3$	nb
	na wagę / by weight	$1,4 \times 10^5$	nb
Rodzynki Raisins	pakowane / packaged	$3,1 \times 10^8$	$1,4 \times 10^1$
	na wagę / by weight	$1,4 \times 10^9$	$1,5 \times 10^2$
Daktyle Dates	pakowane / packaged	$1,1 \times 10^2$	$1,5 \times 10^1$
	na wagę / by weight	$5,3 \times 10^4$	$1,8 \times 10^2$
Żurawina Cranberry	pakowane / packaged	$4,0 \times 10^3$	nb
	na wagę / by weight	$3,5 \times 10^3$	nb
Figi Figs	pakowane / packaged	$2,8 \times 10^2$	$1,1 \times 10^1$
	na wagę / by weight	$2,8 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$

Objaśnienie / Explanatory note:

nb – nieobecne w 10 g / absent in 10 g.

w daktylach sprzedawanych w hermetycznych opakowaniach ( $1,1 \times 10^2$  jtk/g). Porównywalną liczbę bakterii mezofilnych stwierdzono w owocach kupionych luzem, takich jak figi czy żurawina. Niektóre owoce (śliwki, morele oraz rodzynki) sprzedawane na wagę charakteryzowały się jednak jednym, a nawet dwoma rzędami wielkości wyższą liczbą bakterii mezofilnych w porównaniu z owocami suszonymi, pakowanymi hermetycznie.

Bakterie tlenowe przetrwalnikujące nie były obecne w śliwkach, morelach oraz żurawinie, zarówno w opakowaniach hermetycznych, jak i sprzedawanych na wagę. W pozostałych owocach liczba bakterii tlenowych przetrwalnikujących nie była wysoka i wynosiła  $1,1 \times 10^1 \div 1,5 \times 10^2$  jtk/g.

#### *Liczba drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae oraz z grupy coli*

Ogólna liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* obecna w owocach sprzedawanych na wagę wynosiła  $2,3 \times 10^1 \div 1,7 \times 10^3$  jtk/g. Najwyższą liczbę bakterii stwierdzono w rodzinach sprzedawanych luzem, a najniższą – w morelach pakowanych hermetycznie. Bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* nie wykryto w owocach suszonych sprzedawanych w opakowaniach, takich jak: daktyle, żurawina oraz figi. Niektóre owoce (śliwki, morele oraz rodzynki) sprzedawane na wagę miały o rząd wielkości wyższą liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w porównaniu z owocami pakowanymi hermetycznie (tab. 4). Jedynym produktem, w którym występowały bakterie

Tabela 4. Liczba drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz z grupy *coli* w badanych owocach  
Table 4. Count of microorganisms of *Enterobacteriaceae* family and of *coli* group in fruits tested

Produkt / Product		Liczba drobnoustrojów [jtk/g] Count of microorganisms [CFU/g]	
		<i>Enterobacteriaceae</i>	z grupy <i>coli</i> / of <i>coli</i> group
Śliwki Plums	pakowane / packaged	$2,3 \times 10^1$	nb
	na wagę / by weight	$5,2 \times 10^2$	nb
Morele Apricots	pakowane / packaged	$4,5 \times 10^1$	nb
	na wagę / by weight	$1,4 \times 10^2$	nb
Rodzynki Raisins	pakowane / packaged	$1,0 \times 10^2$	nb
	na wagę / by weight	$1,7 \times 10^3$	nb
Daktyle Dates	pakowane / packaged	nb	nb
	na wagę / by weight	$2,1 \times 10^1$	nb
Żurawina Cranberry	pakowane / packaged	nb	nb
	na wagę / by weight	$3,8 \times 10^1$	nb
Figi Figs	pakowane / packaged	nb	nb
	na wagę / by weight	$3,6 \times 10^1$	$1,1 \times 10^1$

Objaśnienie jak pod tab. 3. / Explanatory note as in Tab. 3.

z grupy *coli* były figi sprzedawane luzem. Liczba tych bakterii w figach na wagę była jednak niewielka i wynosiła  $1,0 \times 10^1$  jtk/g.

Głównym źródłem zanieczyszczenia wtórnego owoców suszonych jest człowiek. Na powierzchni skóry oraz w przewodzie pokarmowym posiada on bogatą mikroflorę. To właśnie człowiek mógł stać się przyczyną występowania bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w analizowanych produktach.

#### *Liczba bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* oraz gronkowców koagulazo-dodatnich*

Żaden z badanych produktów (śliwki, morele, rodzynki, daktyle, żurawina oraz figi) zarówno sprzedawany w opakowaniach hermetycznych, jak i na wagę nie był zanieczyszczony bakteriami z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* oraz gronkowcami koagulazo-dodatnimi.

#### *Liczba grzybów strzępkowych*

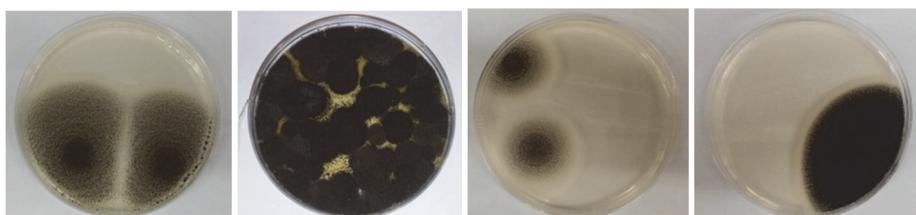
Liczba grzybów strzępkowych obecna w owocach pakowanych wynosiła  $1,3 \times 10^1$   $\div 5,0 \times 10^2$  jtk/g, natomiast w owocach sprzedawanych na wagę w zakresie  $2,8 \times 10^2$   $\div 4,8 \times 10^3$  jtk/g. Niektóre owoce (morele, rodzynki oraz daktyle) sprzedawane na wagę zawierały o rząd wielkości wyższą liczbę grzybów strzępkowych w porównaniu z owocami suszonymi pakowanymi (tab. 5).

Tabela 5. Liczba grzybów strzępkowych w badanych owocach

Table 5. Count of filamentous fungi in fruits tested

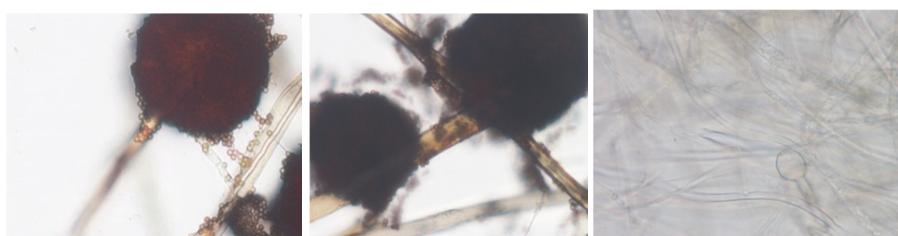
Produkt / Product		Liczba grzybów strzępkowych [jtk/g] Count of filamentous fungi [CFU/g]	Identyfikacja morfologiczna Morphological identification
Śliwki Plums	pakowane / packaged	nb	-
	na wagę / by weight	nb	-
Morele Apricots	pakowane / packaged	$1,3 \times 10^1$	<i>Aspergillus</i>
	na wagę / by weight	$3,8 \times 10^2$	<i>Aspergillus</i>
Rodzynki Raisins	pakowane / packaged	$5,0 \times 10^2$	<i>Aspergillus</i>
	na wagę / by weight	$4,8 \times 10^3$	<i>Aspergillus</i>
Daktyle Dates	pakowane / packaged	$5,6 \times 10^1$	<i>Aspergillus</i>
	na wagę / by weight	$2,8 \times 10^2$	<i>Rhizopus</i>
Żurawina Cranberry	pakowane / packaged	nb	-
	na wagę / by weight	nb	-
Figi Figs	pakowane / packaged	nb	-
	na wagę / by weight	nb	-

Objaśnienie jak pod tab. 3. / Explanatory note as in Tab. 3.



Fot. 1. Wzrost wybranych grzybów strzępkowych na podłożu Sabouraud

Photo 1. Growth of selected filamentous fungi on Sabouraud medium



Fot.. 2. Morfologia wybranych grzybów strzępkowych (obserwacje mikroskopowe,  $\times 40$ )

Photo 2. Morphology of selected filamentous fungi (microscopic observations,  $\times 40$ )

Analiza grzybów strzępkowych, które znajdowały się na owocach, na podstawie makroskopowych i mikroskopowych obserwacji umożliwiła ich zakwalifikowanie do rodzaju *Aspergillus* oraz *Rhizopus* (fot. 1 i 2).

### Wnioski

1. Dominującą mikroflorą suszonych owoców były bakterie mezofilne.
2. Jeśli występowali grzyby strzępkowe, to były to głównie pleśnie *Aspergillus*.
3. W badanych owocach nie stwierdzono obecności gronkowców koagulazododatnich oraz bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella*.
4. Produktem najbardziej zanieczyszczonym mikrobiologicznie były rodynki.
5. Stwierdzono niższy poziom zanieczyszczenia owoców pakowanych hermetycznie niż sprzedawanych luzem.
6. Generalnie można jednak stwierdzić niski poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego badanych owoców suszonych.

### Literatura

- [1] Barth M., Hankinson T.R., Zhuang H., Breidt F.: Microbiological spoilage of fruits and vegetables. In.: Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Eds. W.H. Sperber, M.P. Doyle. Springer-Verlag, New York City 2009, pp. 135-183.

- [2] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności. PZWL, Warszawa 1983.
- [3] Doymaz I.: Sun drying of figs: An experimental study. *J. Food Eng.*, 2005, 71, 403-407.
- [4] Kołożyn-Krajewska D.: Mikroorganizmy w żywności – zagrożenia czy korzyści. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1995, 3 (4), 21-31.
- [5] Ntuli V., Chatanga P., Kwiri R., Gadaga H.T., Gere J., Matsepo T., Potloane R.P.: Microbiological quality of selected dried fruits and vegetables in Maseru, Lesotho. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2017, 11 (5), 185-193.
- [6] Oberman H., Źakowska Z.: Źródła zagrożeń mikrobiologicznych w przemyśle spożywczym. W: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Red. Z. Źakowska, H. Stobińska. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000, ss. 230-293.
- [7] PN-ISO 21527-2:2009. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część 2: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody niższej lub równej 0,95.
- [8] PN-EN ISO 21528-2:2017-08. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae*. Część 2: Metoda liczenia kolonii.
- [9] PN-EN ISO 4833-2:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 2: Oznaczanie liczby metodą posiewu powierzchniowego w temperaturze 30 stopni C.
- [10] PN-EN ISO 6888-1:2001/A1:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 1: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera.
- [11] Rawat S.: Food spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian J. Plant Sci. Res.*, 2015, 5 (4), 47-56.
- [12] Sekar P., Yumnam N., Ponmuranan K.: Screening and characterization of mycotoxin producing fungi from dried fruits and grains. *Advanced Biotech*, 2008, 7 (1), 12-15.
- [13] Vukoje V., Pavko I., Milijatović A.: Economic aspects of dried fruit production by combined technology. *Economics of Agriculture*, 2018, 65, 1031-1044.

#### MICROBIOLOGICAL QUALITY OF DRIED FRUITS HERMETICALLY PACKED AND SOLD IN BULK

##### S u m m a r y

The demand for dried fruits grows both in the Polish and the global market. About 2.5 million tons thereof (mainly raisins) are produced all over the world, and about 8 thousand tons in Poland (mainly apples and plums). Dried fruits that are sold in stores are often contaminated with mesophilic microorganisms, which develop owing to the inadequate storage of the raw material and improper technological processing.

The objective of the research study was to evaluate the microbiological condition of dried fruits available on the Polish market and to determine the impact of packaging on the microbiological quality of those products. There were examined the hermetically packaged and sold in bulk fruits. Under the microbiological analysis performed, determined was the following: total count of mesophilic microorganisms, total count of sporulating aerobic bacteria and moulds, coagulase-positive staphylococci, bacteria of the *Enterobacteriaceae* family, including the coliform bacteria of *Salmonella* and *Shigella*. Microbiological tests were carried out using a bacteria culture method as set in the PN-EN ISO standards. Filamentous fungi were identified on the basis of macroscopic and microscopic observations. It was found that the dominant

microflora to contaminate the dried fruits were mesophilic bacteria and moulds of the *Aspergillus* genus. Based on the results obtained, no coagulase-positive staphylococci were reported nor the *Salmonella* and *Shigella* bacteria. The most contaminated products were raisins and dates. The cleanest product were apricots, both those packaged by their producers and those sold in bulk; the same was reported as regards the cranberries and dried plums. On the other hand, it was generally found that the level of microbiological contamination of the dried fruits tested was low and the level of contamination of hermetically packaged fruits was lower than that of those sold in bulk.

**Key words:** dried fruits, microorganisms, microbiological quality, packaging ☒

PATRYCJA CICHOŃSKA, MAŁGORZATA ZIARNO

**WPŁYW KIEŁKOWANIA NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH  
WĘGLOWODANÓW I POLIFENOLI OGÓŁEM W NAPOJACH  
Z FASOLI BIAŁEJ**

S t r e s z c z e n i e

Celem pracy było określenie wpływu procesu kiełkowania nasion na zawartość wybranych węglowodanów i polifenoli ogółem w napojach z fasoli białej. Materiał doświadczalny stanowiły napoje otrzymywane z nasion fasoli białej ‘Piękny Jaś Karłowy’ (*Phaseolus vulgaris L.*). Napoje otrzymywano z fasoli poddawanej oraz niepoddawanej procesowi kontrolowanego kiełkowania. Oznaczenie zawartości wybranych węglowodanów (fruktozy, sacharozy, maltozy, rafinozy i stachiozy) przeprowadzono z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją refraktometryczną. Całkowitą zawartość polifenoli oznaczono metodą Folina-Ciocalteu'a i wyrażono w równoważnikach kwasu galusowego. Wykazano, że zastosowanie procesu kiełkowania nasion w istotny sposób wpłynęło na całkowitą zawartość polifenoli oraz na zawartość sacharozy, rafinozy i stachiozy w badanych napojach z fasoli. Zwiększenie zawartości polifenoli i zmniejszenie zawartości wskazanych węglowodanów odnotowano w przypadku napojów z fasoli, której nasiona zostały poddane procesowi kiełkowania przez 3 dni. Dotychczas prowadzone badania dotyczące zmian zawartości polifenoli i węglowodanów pod wpływem procesu kiełkowania dotyczyły głównie samych nasion roślin strączkowych. Brakuje opracowań dotyczących wpływu tego procesu w odniesieniu do napojów roślinnych wytwarzanych z tych surowców. Proces kiełkowania przyczynił się do rozkładu oligosacharydów nieulegających trawieniu w przewodzie pokarmowym człowieka i do zwiększenia zawartości polifenoli w badanych napojach z fasoli. Kiełkowanie jest procesem, który pozwala na otrzymanie napojów roślinnych z nasion roślin strączkowych o zwiększonej wartości żywieniowej.

**Słowa kluczowe:** napoje roślinne, napój fasolowy, polifenole, węglowodany, kiełkowanie

**Wprowadzenie**

Obserwuje się rosnące zainteresowanie konsumentów dietą roślinną wynikające głównie ze względów etycznych, chęci prowadzenia zdrowego trybu życia i ograni-

---

*Mgr inż. P. Cichońska, dr hab. inż. M. Ziarno, prof SGGW, Katedra Technologii i Oceny Żywności, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: patrycja\_cichonska@sggw.edu.pl*

czenia negatywnego wpływu na środowisko [4, 12, 14]. Konsumenti coraz częściej sięgają po produkty spożywcze będące alternatywą dla produktów zwierzęcych i odzwierzęcych również ze względów zdrowotnych, takich jak alergia bądź nietolerancja białek mleka krowiego i/lub laktozy czy podwyższony poziom cholesterolu we krwi [4, 12]. Dużym popytem cieszą się napoje roślinne stanowiące alternatywę dla mleka krowiego [19]. Przewiduje się, że światowy rynek napojów roślinnych wzrośnie z 8,51 mld USD w 2016 r. do 24,6 mld USD w 2025 r. [12].

Napoje roślinne otrzymywane są na drodze wodnej ekstrakcji surowców, m.in. zbóż, nasion roślin strączkowych, orzechów, a ich wartość odżywcza znacznie różni się w zależności od surowca, z którego powstają [12, 14]. Wśród napojów otrzymywanych z nasion roślin strączkowych największą popularnością cieszy się napój sojowy. Soja może powodować jednak alergię nawet u 14 % osób cierpiących również na alergię na białka mleka krowiego [14]. Mniejszą akceptacją cechują się napoje roślinne z innych nasion roślin strączkowych, takich jak: fasola, groch, łubin i ciecierzyca, jednak ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne stanowią one potencjalnie odpowiednie matryce do produkcji wegańskich substytutów mleka krowiego [13, 18].

Rośliny strączkowe zawierają korzystne dla zdrowia związki, takie jak inozytol, polifenole, w tym izoflawony i są uważane za niedrogie źródło białka, błonnika, składników mineralnych, węglowodanów i witamin w diecie [7, 10, 15]. Prawie wszystkie jadalne nasiona roślin strączkowych zawierają jednak również składniki przeciwdodzywcze, takie jak oligosacharydy, fityniany i inhibitory proteaz [17, 18]. Spożycie tych produktów jest ograniczone ze względu na brak wiedzy konsumentów na temat sposobu ich prawidłowego przyrządzania oraz efekt wzdymający wywoływany przez oligosacharydy, m.in. rafinozę i stachiozę [10, 17]. Istnieje potrzeba opracowania produktów spożywczych pochodzenia roślinnego o korzystnym profilu aminokwasowym i o ograniczonej zawartości składników przeciwdodzywczych [2].

Niektóre metody przetwarzania, takie jak: obróbka termiczna, moczenie, kiełkowanie i fermentacja pozwalają na zmniejszenie zawartości składników przeciwdodzywczych, zwiększenie smakowitości, a także zwiększenie przyswajalności skrobi i białka z nasionach roślin strączkowych [1, 15, 19]. Zastosowanie kiełkowania w przypadku nasion roślin strączkowych może prowadzić do inaktywacji inhibitorów trypsyny, ograniczenia zawartości kwasu fitynowego oraz ograniczenia ilości oligosacharydów wywołujących dyskomfort i wzdęcia [3, 18].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu procesu kiełkowania nasion fasoli białej na zawartość wybranych węglowodanów i polifenoli ogółem w napojach przygotowanych na ich bazie.

## Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły napoje otrzymane z fasoli białej. Napoje otrzymywano ze skiełkowanych i nieskiełkowanych nasion fasoli białej ‘Piękny Jaś Karłowy’ (*Phaseolus vulgaris L.*). Proces kiełkowania prowadzono w kiełkownicy w temp. 25 °C przez 3 dni (wymieniając wodę co 24 h). Skiełkowane i nieskiełkowane nasiona fasoli poddawano procesowi sterylizacji w temp. 121 °C przez 15 min, mieszano z wodą pitną w stosunku 1 : 9 (m/m) i homogenizowano do uzyskania jednorodnej masy. Uzyskaną masę cedzono przez sito o wielkości oczek 0,1 mm, a otrzymane napoje poddawano procesowi sterylizacji w temp. 121 °C przez 15 min w celu przeprowadzenia żelatynizacji skrobi oraz inaktywacji mikroorganizmów i enzymów.

Oznaczanie zawartości węglowodanów wykonywano w ekstraktach z napojów przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Ekstrakty przygotowywano z próbek napojów z fasoli skiełkowanej i nieskiełkowanej poprzez zmieszanie 8 g napoju oraz 32 g metanolu (Chromasolv do HPLC, Sigma-Aldrich, Polska). Próbki intensywnie mieszano, umieszczano w łaźni ultradźwiękowej na 30 min w temp. 30 °C, następnie wirowano w wirówce laboratoryjnej MPW-350R – temp. 4 °C, 5200 obr./min (POCH, Polska). Po procesie wirowania płyn znad osadu filtrowano przez filtr strzykawkowy – wielkość porów 0,4 µm (Merck Milipore, Niemcy) i poddawano analizie HPLC. Analizę rozdzielało za pomocą zestawu HPLC wyposażonego w pompę DeltaChrom™ Pump, pętlę dozującą Sykam S 6020 Needle Injection Valve, urządzenie kontrolujące temperaturę kolumny DeltaChrom™ Temperature Control Unit oraz kolumnę 05397-51 Cosmosil Sugar-D (4,6 ID × 250 mm) zabezpieczoną prekolumną 05394-81 Cosmosil Guard Column Sugar-D (4,6 ID × 10 mm). Detekcję analitów prowadzono przy użyciu detektora refraktometrycznego Sykam, S3580 RI (Sykam, Niemcy). Podczas analiz stosowano elucję izokratyczną i fazę ruchomą będącą mieszaniną acetonitrylu (Chempur, Polska) i wody dejonizowanej w stosunku wagowym 4 : 1. Do układu dozowano po 0,01 cm<sup>3</sup> roztworów próbek przy użyciu mikrostrzykawki laboratoryjnej. Analizę każdej próbki prowadzono przez 30 min. Każdy napój analizowano w 3 powtórzeniach. Po zakończonej analizie dokonywano identyfikacji otrzymanych pików na podstawie porównania czasów retencji z czasami retencji substancji wzorcowych wybranych węglowodanów: fruktozy, sacharozy, maltozy, rafinozy i stachiozy (Sigma-Aldrich, Polska). Zawartość wybranych węglowodanów w próbkach napojów obliczano na podstawie pola powierzchni pod pikiem zidentyfikowanego węglowodanu z uwzględnieniem stopnia zagęszczenia próby wyjściowej.

Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli w napojach ze skiełkowanej i nieskiełkowanej fasoli wykonywano metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a (Sigma-Aldrich, Polska) i wyrażano jako równoważnik kwasu galusowego (Sigma-Aldrich, Polska). Mieszaniny reakcyjne stanowiły roztwory kwasu galusowego lub napojów (0,25 cm<sup>3</sup>) zmieszane z wodą (19,75 cm<sup>3</sup>), odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a (1,25 cm<sup>3</sup>)

oraz roztworem węglanu sodu ( $3,75 \text{ cm}^3$ , roztwór nasycony). Absorbancję próbek sporządzonych w trzech powtórzeniach mierzono po 30 min przy długości fali  $\lambda = 765 \text{ nm}$  wobec próby zerowej za pomocą spektrofotometru UV-Vis Helios Gamma (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Całkowitą zawartość polifenoli w analizowanych próbках przeliczano na równoważniki kwasu galusowego na podstawie wykonanej uprzednio krzywej wzorcowej w zakresie stężeń  $0,5 \div 2,5 \text{ mg/cm}^3$ .

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Statistica 13.3.

### **Wyniki i dyskusja**

Zastosowanie procesu kiełkowania nasion w sposób statystycznie istotny ( $p = 0,002382$ ) wpłynęło na całkowitą zawartość polifenoli w badanych napojach z fasoli. Większą zawartość polifenoli wykazano w napoju z fasoli, której nasiona zostały poddane procesowi kiełkowania przez okres 3 dni.

Zastosowanie procesu kiełkowania w statystycznie istotny sposób wpłynęło na zawartość sacharozy ( $p = 0,000008$ ), rafinozy ( $p = 0,003602$ ) i stachiozy ( $p = 0,019242$ ) w badanych napojach z fasoli – proces kiełkowania wpływał na zmniejszenie zawartości tych węglowodanów. Brak statystycznie istotnych różnic wykazano w przypadku zawartości fruktozy i maltozy. W tab. 1. przedstawiono wyniki zawartości polifenoli ogółem oraz wybranych węglowodanów w napojach fasolowych, w zależności od zastosowania i braku zastosowania procesu kiełkowania nasion.

Dotychczas prowadzono badania dotyczące wpływu procesu kiełkowania na zawartość polifenoli oraz zawartość węglowodanów w nasionach roślin strączkowych bez uwzględniania przemian tych związków w napojach z nich wytworzonych. Z uwagi na brak danych literaturowych dotyczących przemian polifenoli i węglowodanów w napojach z nasion fasoli w dyskusji odniesiono się do badań przeprowadzonych z wykorzystaniem samego surowca do produkcji napojów, czyli skiełkowanych i nieskiełkowanych nasion fasoli.

Podczas wytwarzania napojów fasolowych stosuje się procesy mechaniczne (np. rozdrabnianie, filtrację) oraz cieplne (np. sterylizację). Procesy te przyczyniają się do eliminacji składników przeciwdżywcznych, ale również mogą wpływać na obniżenie aktywności przeciwitleniającej nasion fasoli [6, 20]. Zastosowanie wcześniejszego procesu kiełkowania nasion fasoli wpływa na zwiększenie zawartości polifenoli ogółem w finalnym napoju z fasoli białej w porównaniu z napojem wytwarzanym z fasoli nieskiełkowanej. W związku z tym wykorzystanie procesu kiełkowania w produkcji napojów fasolowych w pewnym stopniu może zrekompensować straty polifenoli podczas procesu ich wytwarzania.

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem i wybranych węglowodanów w napojach z fasoli białej, w zależności od zastosowania procesu kiełkowania nasion

Table 1. Content of total polyphenols and selected carbohydrates in white kidney bean beverages, depending on seed germination process applied

Napój Beverage	n	Średnia zawartość polifenoli ogółem [mg kwasu galusowego/cm <sup>3</sup> ] Average content of total polyphenols [mg gallic acid/cm <sup>3</sup> ]	Średnia zawartość badanych węglowodanów Average content of carbohydrates tested [mg/kg]				
			fruktoza fructose	sacharoza sucrose	maltoza maltose	rafinoza raffinose	stachioza stachyose
Napój z fasoli niekiełkowanej Bean-based beverage from non-germinated beans	3	0,723 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	2,32 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>
Napój z fasoli kiełkowanej Bean-based beverage from germinated beans	3	1,237 <sup>b</sup>	0,06 <sup>a</sup>	2,13 <sup>b</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,28 <sup>b</sup>

Objaśnienia / Explanatory notes:

n – liczba próbek / numer of samples; a, b – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly at  $p < 0.05$ .

Bieżanowska-Kopeć i Pisulewski [6] dowiedli, podobnie jak w niniejszych badaniach, że proces kiełkowania zwiększał istotnie ( $p < 0,05$ ) zawartość polifenoli w badanych materiałach. Zawartość polifenoli wzrosła z każdym dniem kiełkowania w porównaniu z próbą kontrolną (średnio 2,27 mg równoważników katechiny/g s.m.), a najwyższy poziom osiągnęła w 5. (średnio 2,95 mg równoważników katechin/g s.m.) lub w 4. dniu (średnio 2,90 mg równoważników katechin/g s.m.), w zależności od odmiany fasoli. Według autorów przygotowanie nasion do spożycia polegające na kiełkowaniu było korzystniejsze w porównaniu z procesami termicznymi ze względu na większą zawartość przeciutleniaczy. Z kolei Gharachorloo i wsp. [11] stwierdzili, że kiełkowanie istotnie poprawiło właściwości przeciutleniające badanych nasion roślin strączkowych. Wykazali, że średnia zawartość związków fenolowych ekstrahowanych z badanych nasion za pomocą acetolu, metanolu i heksanu wynosiła odpowiednio [mg/kg]: 112,37, 37,4 i 32,97, podczas gdy średnia zawartość tych związków w nasionach poddanych kiełkowaniu i ekstrahowanych tymi samymi rozpuszczalnikami wynosiła odpowiednio [mg/kg]: 136,87, 65,51 i 53,67. Ww. autorzy wskazali, że prawdo-

podobnie do syntezy większości związków fenolowych dochodzi w czasie procesów wzrostu nasion.

W badaniach Khanga i wsp. [16], w których oceniano zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwtleniającą m.in. fasoli czarnej, fasoli azuki i fasoli Mung, zaobserwowano, że średnia zawartość fenoli ogółem po 5 dniach kiełkowania znacznie zwiększała się ( $p < 0,05$ ) we wszystkich badanych próbkach. W ziarnach nieskiełkowanych zawartość fenoli ogółem wałała się w zakresie  $5,80 \div 18,21$  mg równoważników kwasu galusowego/g suchej próbki. Po 5 dniach kiełkowania zawartość fenoli w fasoli Mung zwiększała się 2-krotnie, podczas gdy w fasoli czarnej i fasoli azuki zwiększała się odpowiednio o ok. 50 i 25 %. W badaniach własnych po 3-dniowym okresie kiełkowania zawartość polifenoli w napoju fasolowym zwiększała się o 70 %, tak więc wyniki badań własnych są zbliżone do wyników ww. autorów.

Bieżanowska-Kopeć i wsp. [5] wykazali, że proces kiełkowania w sposób istotny ( $p < 0,05$ ) wpływał na zwiększenie zawartości polifenoli (z 2,28 do 2,95 mg równoważników katechiny/g) po 5 dniach prowadzenia procesu. Zawartość rafinozy i stachiozy w surowych nasionach fasoli wynosiła odpowiednio: 5,90 i 60,28 mg/g, a proces kiełkowania redukował ich zawartość odpowiednio: o 66 i 90 %. W niniejszych badaniach po procesie kiełkowania uzyskano mniejszą redukcję zawartości rafinozy (o 38,5 %) i stachiozy (o 44 %).

El-Adawy i wsp. [9] badali potencjał żywieniowy i właściwości funkcjonalne poddanych kiełkowaniu nasion fasoli Mung, grochu i soczewicy. W każdym z surowców zawartość węglowodanów w istotny sposób ( $p < 0,05$ ) zmniejszała się już po 72-godzinnym kiełkowaniu. W fasoli Mung zawartość stachiozy zmniejszała się z 14,86 do 0,24 mg/g, zaś zawartość rafinozy – z 4,31 do 0,07 mg/g.

W badaniach Dostalovej i wsp. [8] analizowano zmiany zawartości  $\alpha$ -galaktozydów w wybranych nasionach roślin strączkowych pod wpływem procesu kiełkowania i obróbki wysokociśnieniowej. W fasoli Mung odnotowano zmniejszenie zawartości wszystkich  $\alpha$ -galaktozydów podczas 3-dniowego procesu kiełkowania, odpowiednio o [%]: 24,3, 24,4 i 16,1 w stosunku do pierwotnej zawartości rafinozy, stachiozy i werbaskozy.

Przedstawione dane literaturowe z wcześniejszej przeprowadzonych badań są zbliżone do otrzymanych w niniejszych badaniach. Proces kiełkowania spowodował zwiększenie zawartości polifenoli ogółem oraz zmniejszenie zawartości badanych oligosacharydów i sacharozy. W przytoczonych opracowaniach, w których analizowano zawartość poszczególnych składników w suchych nasionach roślin strączkowych można zaobserwować kilka, a nawet kilkanaście razy większą zawartość polifenoli oraz wybranych węglowodanów w porównaniu z wartościami otrzymanymi w badaniach własnych, a dotyczącymi napojów z tych surowców. Procesowi wytwarzania napojów z fasoli białej towarzyszy utrata części suchej masy surowca w wyniku zastosowania

procesu rozdrabniania i filtracji. Dodatkowo stosowane są zabiegi rozcieńczania oraz sterylizacji. Zastosowane procesy mechaniczne i cieplne spowodowały znaczne zmniejszenie zawartości polifenoli oraz wybranych węglowodanów w porównaniu z zawartością tych składników w surowcu wyjściowym. Zawartość fruktozy i maltozy w badanych napojach nie zmieniła się istotnie pod wpływem procesu kiełkowania. Może to być wynikiem ich znacznie mniejszej zawartości w napoju, spowodowanej wysokim rozcieńczeniem surowca.

### **Wnioski**

1. Proces kiełkowania nasion wpływał statystycznie istotnie na zwiększenie zawartości polifenoli ogółem i zmniejszenie zawartości rafinozy, stachiozy i sacharozy w napoju uzyskanym z fasoli białej (*Phaseolus vulgaris L.*).
2. Doniesienia literaturowe wskazują, że prawdopodobnie do syntezy większości związków fenolowych dochodzi w czasie procesów wzrostu nasion, co może wyjaśniać zwiększenie zawartości polifenoli ogółem w badanych napojach.
3. Proces kiełkowania przyczynił się do rozkładu oligosacharydów nieulegających trawieniu w przewodzie pokarmowym człowieka.
4. Nasiona fasoli białej stanowią odpowiednią matrycę do wytwarzania napojów roślinnych, będących substytutami mleka krowiego.
5. W celu otrzymania produktu o zwiększonej wartości żywieniowej korzystne jest stosowanie w ich technologii odpowiednich procesów pomocniczych, takich jak kiełkowanie.

### **Literatura**

- [1] Akeem S., Kolawole F., Joseph J., Kayode R., Akinatayo O.: Traditional food processing techniques and micronutrients bioavailability of plant and plant-based foods: A review. *Annals. Food Sci. Technol.*, 2019, 20 (1), 30-41.
- [2] Alcorta A., Porta A., Tarrega A., Alvarez M., Vaquero M.: Foods for plant-based diets: Challenges and innovations. *Foods*, 2021, 10 (2), #293.
- [3] Aviles-Gaxiola S., Chuck-Hernandez C., Saldivar S.: Inactivation methods of trypsin inhibitor in legumes: A review. *J. Food Sci.*, 2018, 83 (1), 17-29.
- [4] Aydar E., Tutuncu S., Ozcelik B.: Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *J. Funct. Foods*, 2020, 70, #103975.
- [5] Bieżanowska-Kopeć R., Franczyk M., Pisulewski P., Polaszczyk S.: Wpływ fermentacji przez *Rhizopus microsporus*, *Oligosporus* sp. T3 oraz kiełkowania na zmiany zawartości składników nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris L.*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, 2 (47), 93-101.
- [6] Bieżanowska-Kopeć R., Pisulewski P.: Wpływ procesów termicznych i biologicznych na pojemność przeciwwietlajączą nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris L.*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, 3 (48), 51-64.
- [7] Brummer Y., Kaciani M., Tosh S.: Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Res. Int.*, 2015, 67, 117-125.

- [8] Dostalova J., Kadlec P., Bernaskova J., Houska M., Strohalm J.: The changes of  $\alpha$ -galactosides during germination and high pressure treatment of legume seeds. Czech J. Food Sci., 2009, 27, 76-79.
- [9] El-Adawy T., Rahma E., El-Badewey A., El-Beltagy A.: Nutritional potential and functional properties of germinated Mung bean, pea and lentil seeds. Plant Foods Hum. Nutr., 2003, 58, 1-13.
- [10] Ferreira H., Vasconcelos M., Gil A., Pinto E.: Benefits of pulse consumption on metabolism and health: A systematic review of randomized controlled trials. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2021, 61 (1), 85-96.
- [11] Gharachorloo M., Tarzi B., Baharinia M.: The effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activity of pulses. J. Am. Oil Chem. Soc., 2013, 90, 407-411.
- [12] Haas R., Schnepps A., Pichler A., Meixner O.: Cow milk versus plant-based milk substitutes: A comparison of product image and motivational structure of consumption. Sustainability, 2019, 11 (18), #5046.
- [13] Hayat I., Ahmad A., Masud T., Ahmed A., Bashir S.: Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An overview. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2014, 54, 580-592.
- [14] Jeske S., Zannini E., Arendt E.: Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. Plant Foods Hum. Nutr., 2017, 72, 26-33.
- [15] Kamboj R., Nanda V.: Proximate composition, nutritional profile and health benefits of legumes – A review. Legum. Res., 2018, 41, 325-332.
- [16] Khang D., Dung T., Elzaawely A., Xuan T.: Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. Foods, 2016, 5, #27.
- [17] Lal N., Barechiya J., Raypuriya N., Shiurkar G.: Anti-nutrition in legumes: Effect in human health and its elimination. Innovative Farming, 2017, 2 (1), 32-36.
- [18] Nawaz M., Tan M., Øiseth S., Buckow R.: An emerging segment of functional legume-based beverages: A review. Food Rev. Int., 2020, #1762641.
- [19] Paul A., Kumar S., Kumar V., Sharma R.: Milk analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2020, 60(18), 3005-3023.
- [20] Wołosiak R., Drużyńska B., Piecyk M., Worobiej E., Majewska E., Lewicki P.: Influence of industrial sterilisation, freezing and steam cooking on antioxidant properties of green peas and string beans. Int. J. Food Sci. Technol., 2010, 46 (1), 93-100.

#### EFFECT OF GERMINATION ON CONTENT OF SELECTED CARBOHYDRATES AND TOTAL POLYPHENOLS IN WHITE KIDNEY BEAN BEVERAGES

##### S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of seed germination on the content of selected carbohydrates and total polyphenols in the white kidney bean beverages. The research material consisted of beverages made on the basis of white beans called ‘Piękny Jaś Karlowy’ (*Phaseolus vulgaris* L.). The beverages were made from the beans with or without controlled germination. The determination of the content of selected carbohydrates (fructose, sucrose, maltose, raffinose and stachyose) was carried out using a high-performance liquid chromatography (HPLC) with a refractometric detection. The total content of polyphenols was determined with the use of Folin-Ciocalteu method and expressed as gallic acid equivalents. It was proved that the application of the germination process significantly impacted both the content of total polyphenols and that of the sucrose, raffinose and stachyose in the bean-based beverages tested. In the case of the bean-based beverages made from 3-day germinated seeds, an increase was reported in the content of polyphenols as was a decrease in the content of the carbohydrates indicated. The

hitherto research, in which changes were studied in the content of polyphenols and carbohydrates as a result of the germination process, concerned mainly legume seeds. There are no studies dealing with the impact of that process on the legume-based beverages. The germination process contributed to the breakdown of oligosaccharides appearing non-digestible in the human gastrointestinal tract and, as for the bean-based beverages tested, it caused the content of polyphenols to increase. Germination is a process that makes it possible to make legume-based beverages with an increased nutritional value.

**Key words:** plant-based beverages, bean beverage, polyphenols, carbohydrates, germination 

NATALIA WAWRZYNIAK, ANNA GRAMZA-MICHAŁOWSKA,  
BARTOSZ KULCZYŃSKI, PAWEŁ KOŁODZIEJSKI, JOANNA SULIBURSKA

## **WPŁYW WZBOGACONEJ W WAPŃ DYNI NA WYBRANE PARAMETRY BIOCHEMICZNE KRWI SZCZURÓW PO OWARIEKTOMII**

### **S t r e s z c z e n i e**

Często obserwuje się w diecie kobiet niedobór wapnia, dlatego też ważne jest poszukiwanie nowych źródeł tego niezbędnego składnika mineralnego. Jednym z innowacyjnych produktów jest dynia wzbogacona w wapń. Dostarczenie do organizmu łatwo przyswajalnego wapnia może mieć wpływ na zmniejszenie objawów związanych z menopauzą.

Celem pracy było określenie wpływu dyni wzbogaconej w mleczan wapnia, uzyskanej metodą odwadniania osmotycznego, stosowanej w żywieniu szczurów po owariektomii na zmiany parametrów biochemicznych ich krwi. Badania przeprowadzono na 12-tygodniowych samicach szczurów Wistar. Zwierzęta podzielono na 8 grup ( $n = 10$ ), z czego 7 poddano operacji owariektomii. Szczury żywiono dietą standardową modyfikowaną w zależności od grupy: 1) kontrolna K(-) – dieta standardowa (bez modyfikacji), 2) kontrolna K(+) po owariektomii – dieta standardowa (bez modyfikacji), 3) OVXDEF – dieta z niedoborem wapnia, 4) OVXP – dieta z dynią niewzbogaconą, 5) OVXCaL – dieta z mleczanem wapnia, 6) OVXPCaL – dieta z dynią wzbogaconą mleczanem wapnia, 7) OVXCaLA – dieta z mleczanem wapnia i z dodatkiem alendronianu potasu, 8) OVXPCaLA – dieta z dynią wzbogaconą w wapń i z dodatkiem alendronianu potasu. Po 12 tygodniach od interwencji wykonano analizę składu ciała szczurów, następnie zwierzęta zdekapitowano i pobrano krew do analiz. W surowicy krwi oznaczono profil lipidowy, aminotransferazy ALT i AST oraz glukozę. Wykazano, że owariektomia wpłynęła znacząco na zwiększenie masy ciała szczurów, zawartość tkanki tłuszczowej, stężenie ALT oraz niekorzystnie oddziałała na profil lipidowy. Zaobserwowano ponadto, że dynia wzbogacona w wapń znacznie obniżała stężenie aminotransferazy alaninowej i triacylogliceroli we krwi szczurów po owariektomii. Podsumowując, można stwierdzić, że dynia wzbogacona w mleczan wapnia normalizuje parametry funkcji wątroby i parametry lipidowe u szczurów po zabiegu usunięcia jajników.

**Słowa kluczowe:** dynia wzbogacona, wapń, owariektomia, profil lipidowy, aminotransferazy

---

*Mgr N. Wawrzyniak, dr hab. J. Suliburska, Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki, prof. dr hab. A. Gramza-Michałowska, dr B. Kulczyński, Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, dr P. Kołodziejski, Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt, Wydz. Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań. Kontakt: joanna.suliburska@up.poznan.pl*

## **Wprowadzenie**

Według Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW) okres okołomenopauzalny składa się z trzech etapów: wczesna okołomenopauza charakteryzująca się nieregularnym cyklem menstruacyjnym, późne przejście menopauzalne – okres ponad dwóch miesięcy między miesiączkami oraz wczesna menopauza, czyli pierwszy rok od ostatniej miesiączki [34]. W okresie pomenopauzalnym dochodzi do wahania hormonów płciowych, a objawy wiążą się głównie ze znacznym niedoborem estrogenu, czego skutkiem są liczne zmiany metaboliczne, immunologiczne i fizjologiczne w organizmie kobiety [44]. Uderzenia gorąca i nocne poty, bezsenność i niestabilność nastroju mogą rozpocząć się przed ustaniem menstruacji, natomiast długotrwały niedobór estrogenu prowadzić może do migreny, zmian metabolicznych i wzrostu masy ciała, miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych, objawów związanych z układem moczowo-płciowym (bolesność przy oddawaniu moczu, nawracające infekcje), dysfunkcji seksualnych, suchości naskórka, osteoporozy [34].

Przebudowa kości składa się z czterech etapów: aktywacji fazy spoczynkowej, resorpcji, fazy odwróconej oraz formowania. W stanie niedoboru estrogenu cykl ten zostaje upośledzony poprzez zwiększenie aktywności fazy resorpcji, czego skutkiem jest utrata masy kostnej. Mineralna gęstość kości  $\leq -2,5$  T-score w badaniu densytometrycznym świadczy o osteoporozie, co zwiększa ryzyko złamań kości. Terapię osteoporozy można przeprowadzić drogą farmakologiczną lub/i żywieniową. Do leków chroniących przed utratą masy kości należą środki anaboliczne, zwiększające formowanie kości (np. teryparatyd) oraz środki przeciwersorpcyjne (głównie bisfosfoniany, denozumab, hormonalna terapia zastępcza) [17]. Natomiast do żywieniowych metod leczenia należy zwiększenie spożywania źródeł bogatych w wapń oraz unikanie czynników zmniejszających jego przyswajalność [45].

Niedobór wapnia w diecie jest powszechnym problemem, który dotyczy ludności na całym świecie, w szczególności kobiet w okresie okołomenopauzalnym. Przewlekły niedobór wapnia może przyspieszyć zmniejszanie mineralnej gęstości kości i wraz z deficytem estrogenu przyczynić się do powstania osteoporozy [6].

Jednym ze sposobów na zwiększenie dziennej podaży wapnia jest zastosowanie żywności fortyfikowanej. Innowacyjnym produktem, mogącym pomóc w dostarczeniu do organizmu odpowiedniej ilości wapnia, jest dynia wzbogacana metodą odwadniania osmotycznego [28].

Celem pracy było określenie wpływu dyni wzbogaconej w mleczan wapnia, uzykanej metodą odwadniania osmotycznego, stosowanej w żywieniu szczurów po ovariektomii na zmiany parametrów biochemicznych ich krwi.

## Material i metody badań

Dynia użyta do badań pochodziła z krajowych upraw ekologicznych, natomiast mleczan wapnia i inulinę zakupiono w firmie Agnex (Białystok, Polska). Składniki karmy dla zwierząt, tj. składniki mineralne, witaminy, cholinę i L-cysteinę zakupiono w firmie Sigma-Aldrich (Darmstadt, Niemcy) natomiast skrobię kukurydzianą, dekstrynę, kazeinę, sacharozę, celulozę oraz olej rzepakowy – w firmie Hortimex (Konin, Polska).

Szczury Wistar (12-tygodniowe samice) zakupiono w Wielkopolskim Centrum Zaawansowanych Technologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Zwierzęta trzymano w standardowych warunkach, pojedynczo w klatkach. Zastosowano dwunastogodzinny cykl światło – ciemność. Badania poprzedzono jednotygodniową aklimatyzację zwierząt. Doświadczenie na zwierzętach przeprowadzono zgodnie z wytycznymi dotyczącymi opieki i użytkowania zwierząt laboratoryjnych. Na eksperiment uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej w Poznaniu nr 34/2019.

Badania przeprowadzono na 80 szczurach. Wszystkie szczury były karmione dietą AIN-93M [37]. Zwierzęta losowo podzielono na osiem grup po 10 zwierząt w każdej. Początkowa masa ciała szczurów nie różniła się między grupami. Na początku doświadczenia 70 szczurów poddano owarektomii (OVX) w celu ustalenia modelu osteoporozy pomenopauzalnej. Po 7 dniach rekonwalescencji rozpoczęto interwencję żywieniową trwającą 12 tygodni. Dietę standardową modyfikowano w zależności od grupy:

- kontrolna K(-) – dieta standardowa (bez modyfikacji),
- kontrolna K(+) po owarektomii – dieta standardowa (bez modyfikacji),
- OVXDEF – dieta z niedoborem wapnia,
- OVXP – dieta z dynią niewzbogaconą,
- OVXCaL – dieta z mleczanem wapnia,
- OVXPCaL – dieta z dynią wzbogaconą mleczanem wapnia,
- OVXCaLA – dieta z mleczanem wapnia, z dodatkiem alendronianu potasu,
- OVXPCaLA – dieta z dynią wzbogaconą w wapń, z dodatkiem alendronianu potasu.

Każda dieta, poza deficytową, zawierała 5 g wapnia na 1 kg diety. Dietę deficytową otrzymano poprzez pominięcie dodatku węglanu wapnia do standardowej diety. Dynia została wzbogacona mleczanem wapnia w procesie odwodnienia osmotycznego z użyciem substancji osmotycznie czynnej – inuliny [28]. 1 g liofilizatu dyni wzbogaconej mleczanem wapnia zawierał 28 mg wapnia. Dynię wzbogaconą mleczanem wapnia dodawano w ilości 180 g na 1 kg diety OVXPCaL, natomiast do diety OVXCaL dodawano 27,22 g mleczanu wapnia na 1 kg diety. Zwierzętom pozwolono spożywać karmę i pić wodę dejonizowaną *ad libitum* przez cały eksperiment. Szczury w każdej grupie ważono raz w tygodniu, a codziennie odnotowywano spożycie pokar-

mu. Po zakończeniu eksperymentu przeprowadzano analizę składu ciała wszystkich zwierząt za pomocą analizatora składu ciała LF90II firmy Bruker (USA). Następnie szczury z każdej grupy dekapitowano i pobierano próbki krwi. Krew wirowano i otrzymywano surowicę. W surowicy oznaczano: aminotransferazę alaninową i asparagianową, glukozę, cholesterol, triacyloglicerole, cholesterol LDL i cholesterol HDL. Badania biochemiczne krwi wykonywano w certyfikowanym laboratorium diagnostycznym.

Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnie  $\pm$  odchylenie standardowe. Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą programu Statistica (StatSoft, USA). Zastosowano jednoczynnikową analizę ANOVA, a istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem post-hoc Tukeya ( $p < 0,05$ ).

### **Wyniki i dyskusja**

Wyniki przedstawiono w tab. 1 i 2. Masa ciała szczurów w grupach po owarektomii była istotnie większa niż w grupie kontrolnej, wyjątkiem była grupa żywiona dynią wzbogaconą w wapń (OVXCaL), która nie różniła się statystycznie od grupy kontrolnej (tab. 1). Zaobserwowano również, że zawartość tkanki tłuszczowej w grupach owarektomizowanych była prawie dwukrotnie większa niż w grupie kontrolnej K(-), z wyjątkiem grup karmionych dietą z dodatkiem wzbogaconej dyni, w których wartości tego parametru były porównywalne z grupą kontrolną. Szczury karmione dynią wzbogaconą w mleczan wapnia (OVXPCaL) miały mniej tkanki tłuszczowej niż szczury karmione z dodatkiem samego mleczanu wapnia (OVXCaL). Analogiczna sytuacja wystąpiła między grupą karmioną dietą wzbogaconą dynią z dodatkiem alendronianu (OVXPCaLA) a dietą z dodatkiem tylko mleczanu wapnia i alendronianu (OVXCaLA). U kobiet po menopauzie także obserwuje się wzrost masy ciała i tkanki tłuszczowej [32]. Zarówno receptory estrogenu, jak i leptyny znajdują się w tych samych neuronach w podwzgórzu brzuszno-przyśrodkowym, jądrze łukowatym oraz w obszarze przedoczynnym, które koordynują zarówno funkcję gonad, jak i metabolizm. W ten sposób estrogen odpowiada nie tylko za regulację rozrodu, ale także wpływa na utrzymanie prawidłowej masy ciała, a leptyna oprócz regulacji apetytu uczestniczy również w modulowaniu neuroendokrynnych funkcji rozrodu. Po menopauzie stężenie estrogenu ulega zmniejszeniu, natomiast poziom leptyny zależy od masy ciała: u szczupłych kobiet po menopauzie stężenie leptyny jest w normie, natomiast u otyłych – stężenie ulega zwiększeniu [4]. Przy niedoborze estrogenu dochodzi do wzrostu reaktywnych form tlenu, a tym samym do zwiększenia stresu oksydacyjnego [33], co może skutkować przyrostem masy ciała [35]. Dynia zawiera przeciwitleniacze, które w sposób naturalny minimalizują stres oksydacyjny. Jednym z nich jest  $\beta$ -kryptoksyantyna, która poprzez 7-krotnie większe wchłanianie niż inne antyoksydanty z grupy karotenoidów może w istotny sposób przyczynić się do zmniejszenia masy

ciała wskutek obniżenia poziomu stresu oksydacyjnego [9]. Oprócz  $\beta$ -kryptoksaniny stres oksydacyjny mogą również zmniejszyć inne przeciwutleniacze zawarte w dyni, tj. luteina, likopen, zeaksantyna, rutyna czy kemferol [28]. W grupach szczurów karmionych dietą z dodatkiem mleczanu wapnia nie zaobserwowano tak zbliżonej masy ciała do grupy kontrolnej, jak w przypadku szczurów otrzymujących dynię wzbogaconą tym związkiem. Pośrednio na ten wynik wpływ mógł mieć wzrost biodostępności wapnia oraz wpływ bioaktywnych składników dyni na mikrobiom jelitowy. Inulina, będąca jednym ze składników wzbogaconej dyni, zwiększa wchłanianie wapnia oraz innych składników mineralnych, czego przyczyną jest zmiana składu mikrobioty jelitowej – głównie wzrost probiotycznych bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* [14]. Możliwym mechanizmem jest też powiększenie powierzchni wchłaniania, głównie w kątnicy [2, 36] oraz zwiększenie stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ang. SCFA, *short chain fatty acids*), które obniżają pH w jelcie, a tym samym zwiększają biodostępność wapnia [27, 36].

Jak podają Jürimäe i wsp. [24], ilość wapnia w diecie jest ujemnie skorelowana z zawartością tkanki tłuszczowej oraz masą ciała. W podobnych badaniach stwierdzono również, że przewlekły niedobór wapnia prowadzi do zaburzenia metabolizmu energetycznego [16], a jego suplementacja wzmacnia wrażliwość na insulinę i prowadzi do zmniejszenia masy ciała [15]. W niniejszych badaniach zastosowano również połączenie leku na osteoporozę (alendronianu potasu) z wapniem i dynią wzbogaconą w wapń. Alendronian stosuje się w tego typu badaniach modelowych [22, 23, 26, 29]. Bonnick i wsp. [8] wykazali, że dodatek wapnia nie niweluje działania alendronianu związanego ze zmniejszeniem resorpcji i zwiększeniem mineralnej masy kości, ale może zmniejszać w moczu zawartość N-telopeptydu [8], którego występowanie jest wskaźnikiem diagnostycznym osteoporozy [18].

Zawartość wody w organizmie w grupach szczurów otrzymujących dietę z dodatkiem dyni była mniejsza niż w innych grupach owariektomizowanych i nie różniła się statystycznie istotnie od grupy kontrolnej. Natomiast bez tłuszczowa masa ciała we wszystkich grupach była zbliżona do grupy kontrolnej.

W pracy badano parametry funkcji wątroby: aminotransferazę alaninową oraz aminotransferazę asparaginianową (tab. 2). Zaobserwowano nieznacznie wyższe stężenia ALT w krwi szczurów po owariektomii, ale były one statystycznie nieistotne. Zastosowanie diety z dynią wzbogaconą w wapń z dodatkiem alendronianu najsilniej obniżało stężenie tego parametru do wartości porównywalnej z grupą kontrolną. Warto zauważyć, że szczury spożywające dietę z wapniem bez dodatku dyni miały nieznacznie wyższe stężenia ALT aniżeli te, które otrzymywały dodatek dyni do diety. Owariektomia nie miała natomiast wpływu na stężenie AST we krwi. Nie zaobserwowano również wpływu interwencji żywieniowej na ten parametr.

Tabela 1. Dzienne spożycie diety przez badane szczury oraz skład ich ciała  
 Table 1. Daily diet intake of the test rats and their body composition

Wyszczególnienie / Item	Grupa / Group				
	K(-)	K(+)	OVXDEF	OVXP	OVXCal
Dzienne spożycie karmy Daily diet intake [g]	25,08 ± 0,63	25,11 ± 1,7	26,14 ± 1,87	24,53 ± 1,09	25,90 ± 0,55
Masa ciała / Body mass [g]	337,19 <sup>a</sup> ± 27,2	436,62 <sup>b</sup> ± 56,89	449,79 <sup>b</sup> ± 68,62	424,89 <sup>b</sup> ± 55,3	443,32 <sup>b</sup> ± 52,21
Tkanka tłuszczaowa Fat tissue [g]	113,66 <sup>a</sup> ± 42,99	225,68 <sup>bcd</sup> ± 66,19	246,19 <sup>bcd</sup> ± 83,14	205,94 <sup>bcd</sup> ± 79,23	252,27 <sup>cd</sup> ± 47,47
Zawartość wody Water content [g]	34,08 <sup>c</sup> ± 7,02	52,9 <sup>bc</sup> ± 12,33	55,98 <sup>bc</sup> ± 15,99	51,09 <sup>bc</sup> ± 12,67	58,9 <sup>bc</sup> ± 9,29
Bez tłuszcza masa ciała Lean body mass [g]	194,64 <sup>ab</sup> ± 21,21	199,76 <sup>ab</sup> ± 29,27	194,82 <sup>ab</sup> ± 24,77	203,49 <sup>ab</sup> ± 28,17	184,92 <sup>ab</sup> ± 20,25
					217,3 <sup>b</sup> ± 24,96
					170,21 <sup>a</sup> ± 24,87
					205,96 <sup>b</sup> ± 23,55

Objaśnienia / Explanatory notes:

K(-) – grupa kontrolna / control group; K(+) – grupa po ovariektomii / group after ovariectomy; OVXDEF – grupa po ovariektomii na diecie z niedoborem wapnia / group after ovariectomy with calcium-deficient diet; OVXP – grupa po ovariektomii na diecie z niedoborem wapnia z dodatkiem dyni / group after ovariectomy with calcium-deficient diet and with pumpkin added; OVXCal – grupa po ovariektomii na diecie z defycitem wapnia z dodatkiem mleczanu wapnia / group after ovariectomy with calcium-deficient diet and with calcium lactate added; OVXPCAL – grupa po ovariektomii na diecie z defycitem wapnia z dodatkiem dyni wz bogaconej mleczanem wapnia / group after ovariectomy with calcium-deficient diet and with calcium lactate-enriched pumpkin added; OVXCALA – grupa po ovariektomii na diecie z defycitem wapnia z dodatkiem alendronianu potasu i mleczanu wapnia / ovarectomy group with a calcium-deficient diet with alendronate and calcium lactate; OVXPCALA – grupa po ovariektomii na diecie z defycitem wapnia z dodatkiem alendronianu potasu oraz dyni wz bogaconej mleczanem wapnia / group after ovariectomy with calcium-deficient diet and with potassium alendronate and calcium lactate-enriched pumpkin added. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; a, b, c, d – 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 ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Wybrane parametry biochemiczne krwi szczurów  
Table 2. Selected biochemical parameters of blood in rats

Wyszczególnienie Item	Grupa / Group				
	K(-)	K(+)	OVXDEF	OVXP	OVXCal
ALT [U/l]	44,69 <sup>a</sup> ± 20,24	68,99 <sup>ab</sup> ± 34,25	55,38 <sup>a</sup> ± 26,36	51,38 <sup>a</sup> ± 19,96	94,71 <sup>b</sup> ± 42,39
AST [U/l]	188,15 ± 65,5	210,54 ± 42,6	189,18 ± 50,31	196,71 ± 27,93	248,31 ± 76,04
GLU [mg/dl]	109,6 <sup>ab</sup> ± 14,11	103,8 <sup>a</sup> ± 11,72	110,55 <sup>ab</sup> ± 12,13	103,8 <sup>a</sup> ± 9,16	113,2 <sup>ab</sup> ± 16,69
CHOL [mg/dl]	92,1 ± 14,25 <sup>a</sup>	148,58 ± 33,44 <sup>b</sup>	143,34 ± 28,55 <sup>b</sup>	135,23 ± 17,74 <sup>b</sup>	150,61 ± 21,65 <sup>b</sup>
TG [mg/dl]	77,37 <sup>a</sup> ± 10,88	108,58 <sup>abc</sup> ± 35,98	115,06 <sup>bc</sup> ± 39,8	93,28 <sup>abc</sup> ± 25,67	109,58 <sup>bcd</sup> ± 30,87
LDL [mg/dl]	8,24 <sup>a</sup> ± 2,72	23,79 <sup>b</sup> ± 6,35	25,64 <sup>b</sup> ± 7,52	25,12 <sup>b</sup> ± 8,32	24,99 <sup>b</sup> ± 6,6
HDL [mg/dl]	85,03 <sup>a</sup> ± 11,23	124,31 <sup>b</sup> ± 24,53	119,1 <sup>b</sup> ± 20,02	117,48 <sup>b</sup> ± 15,05	124,47 <sup>b</sup> ± 15,33
					109,35 <sup>ab</sup> ± 22,94
					128,01 <sup>b</sup> ± 14,41
					106,89 <sup>ab</sup> ± 19,64

Objaśnienia / Explanatory notes:

ALT – aminotransferaza alaninowa / alanine aminotransferase; AST – aminotransferaza asparaginianowa / aspartate aminotransferase; GLU – glukoza / glucose; CHOL – cholesterol całkowity / total cholesterol; TG – triacyloglycerole / triglycerides; LDL – lipoproteina o małej gęstości / low-density lipoprotein; HDL – lipoproteina o dużej gęstości / high-density lipoprotein.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Jak wspomniano wyżej, miąższ dyni zawiera dużo karotenoidów, których odpowiednie spożycie wpływa na stan zdrowotny wątroby. Karotenoidy stymulują wytwarzanie witaminy A, prowadzące do poprawy sygnalizacji retinoidowej, wpływają pozytywnie na stan antyoksydacyjny oraz wytwarzają metabolity karotenoidów stymulujące szlaki sygnałowe.<sup>[13]</sup> Sugiura i wsp. [43] zaobserwowali w badaniu kohortowym, że stężenie karotenoidów w surowicy ( $\beta$ -kryptoksyantyny oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotenu) jest odwrotnie proporcjonalne do ryzyka wystąpienia podwyższzonego stężenia ALT w surowicy, co zostało potwierdzone w niniejszych badaniach. Inulina zawarta we wzbogaconej dyni również ma korzystny wpływ na wątrobę – hamuje stan zapalny [1, 7], jak również obniża stężenie enzymów wątrobowych [42].

Stężenie glukozy we krwi szczurów w grupach żywionych z dodatkiem alendronianu potasu nie różniło się statystycznie istotnie od wartości tego parametru w grupie kontrolnej. W badaniach na myszach zaobserwowano podobny efekt [11], natomiast w badaniach z udziałem ludzi wykazano, że alendronian stosowany u kobiet w okresie menopauzy obniża poziom glukozy, a tym samym chroni przed cukrzycą typu 2 [10, 25] bądź nie ma istotnego wpływu na glikemię [40]. Wyniki otrzymane w badaniach własnych oraz w innych pracach wskazują na potrzebę wyjaśnienia mechanizmu, który jest odpowiedzialny za wpływ alendronianu na gospodarkę węglowodanową.

Otyłość androidalna związana jest ze zwiększym ryzykiem nadciśnienia tętniczego, opornością na insulinę, stłuszczeniem wątroby, a także dyslipidemią [21]. W niniejszych badaniach we krwi szczurów po ovariectomii zaobserwowano wzrost stężenia triacylogliceroli (TG). Podobnie u kobiet po menopauzie obserwuje się wzrost stężenia TG oraz ogólne pogorszenie profilu lipidowego [5]. Stężenie TG we krwi szczurów w grupach karmionych dietą ze wzbogaconą dynią charakteryzowało się porównywalnymi wartościami z grupą kontrolną. Najniższe stężenie triacylogliceroli wykazano w grupie OVXPCaL. Grupa ta cechowała się także najmniejszą zawartością tkanki tłuszczowej. Badania wskazują na związek tkanki tłuszczowej ze stężeniem triacylogliceroli we krwi. Sajuthi i wsp. [39] uważają, że genetyczna regulacja transkrypcji w tkance tłuszczowej prowadzi do wzrostu stężenia triacylogliceroli we krwi. Wraz ze wzrostem zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie rośnie również ekspresja markerów makrofagowych, co prowadzi do dyslipidemii niezależnie od otyłości [3].

Ovariectomia wpłynęła na wzrost stężenia cholesterolu całkowitego we krwi szczurów, a spożywanie dyni z wapniem i alendronianem widocznie hamowało wzrost wartości tego parametru, choć nie zaobserwowano istotnych zmian między grupami. Podobne zależności obserwowano w przypadku cholesterolu frakcji LDL i HDL. Wyniki badań dotyczących związku gospodarki wapnia z profilem lipidowym są sprzeczne. Cho i wsp. [12], He i wsp. [20] oraz Yao i wsp. [47] wskazują na dodatnią korelację stężenia wapnia w surowicy krwi z zawartością cholesterolu całkowitego

i triacylogliceroli oraz ujemną – z cholesterolom frakcji LDL. Natomiast Wu i wsp. [46] nie wykazali takich zależności. Ghahremanloo i wsp. [19] w 2017 r. zaobserwowali, że ekstrakt z miąższu dyni ma istotny wpływ na gospodarkę lipidową, a jego spożycie zmniejsza stężenie triacylogliceroli i cholesterolu frakcji LDL, a także zwiększa stężenie cholesterolu HDL. Związkami bioaktywnymi dyni, które prawdopodobnie są odpowiedzialne za poprawę profilu lipidowego są trigonellina i kwas nikotynowy. Song i wsp. [41] odnotowali, że zastosowanie mieszanki polisacharydów pochodzących z dyni skutecznie normowało stężenie lipidów w surowicy myszy karmionych dietą wysokotłuszcztwową. Także inulina zawarta we wzbogaconej dyni jest związkiem, którego spożycie wpływa pozytywnie na profil lipidowy. Spożycie inuliny prowadzi do wzrostu produkcji SCFA, zwiększenia wydalania cholesterolu i soli żółciowych z kałem oraz zmniejszenia syntezy lipidów *de novo* poprzez hamowanie ekspresji genów enzymów wątrobowych [30, 31, 38]. Przedstawione wyżej mechanizmy mogły mieć związek z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych, które wskazują na korzystne działanie wzbogaconej dyni na stężenie lipidów w surowicy szczurów.

### **Wnioski**

1. Wykazano, że dieta z dodatkiem dyni wzbogaconej w mleczan wapnia wpływała na obniżenie stężenia triacylogliceroli i aminotransferazy alaninowej we krwi szczurów poddanych ovariectomii.
2. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że dynia wzbogacona w mleczan wapnia metodą odwadniania osmotycznego jest składnikiem diety odpowiednim do tego, aby poprawić parametry lipidowe i normalizować parametry funkcji wątroby w warunkach symulujących stan menopauzy u szczurów.
3. Konieczne jest przeprowadzenie badań klinicznych z udziałem ludzi w celu potwierdzenia wyników uzyskanych w badaniach *in vivo*.

*Badanie zostało sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki numer grantu: 2018/29/B/NZ9/00461].*

### **Literatura**

- [1] Abhari K., Saadati S., Yari Z., Hosseini H., Hedayati M., Abhari S., Alavian S.M., Hekmatdoost A.: The effects of *Bacillus coagulans* supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized, placebo-controlled, clinical trial. Clin. Nutr. ESPEN, 2020, 39, 53-60.
- [2] Abrams S.A., Hawthorne K.M., Aliu O., Hicks P.D., Chen Z., Griffen I.J.: An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. J. Nutr., 2007, 137, 2208-2212.
- [3] Ahlin S., Sjöholm K., Jacobson P., Andersson-Assarsson J.C., Walley A., Tordjman J., Poitou C., Prifti E., Jansson P.A., Borén J., Sjöström L., Froguel P., Bergman R.N., Carlsson L.M.S., Olsson

- B., Svensson P.A.: Macrophage gene expression in adipose tissue is associated with insulin sensitivity and serum lipid levels independent of obesity. *Obesity*, 2013, 21 (12), E571-E576.
- [4] Ambikairajah A., Walsh E., Cherbuin N.: Lipid profile differences during menopause: A review with meta-analysis. *Menopause*, 2019, 26, 1327-1333.
- [5] Ambikairajah A., Walsh E., Tabatabaei-Jafari H., Cherbuin N.: Fat mass changes during menopause: A metaanalysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2019, 221 (5), 393-409.
- [6] Balk E.M., Adam G.P., Langberg V.N., Earley A., Clark P., Ebeling P.R., Mithal A., Rizzoli R., Zerbini C.A.F., Pierroz D.D., Dawson-Hughes B.: Global dietary calcium intake among adults: A systematic review. *Osteoporos Int.*, 2017, 28, 3315-3324.
- [7] Bao T., He F., Zhang X., Zhu L., Wang Z., Lu H., Wang T., Li Y., Yang S., Wang H.: Inulin exerts beneficial effects on non-alcoholic fatty liver disease via modulating gut microbiome and suppressing the lipopolysaccharide-toll-like receptor 4-My-Nuclear factor- $\kappa$ B-nod-like receptor protein 3 pathway via gut-liver axis in mice. *Front Pharmacol.*, 2020, 11, #558525.
- [8] Bonnick S., Broy S., Kaiser F., Teutsch C., Rosenberg E., DeLucca P., Melton M.: Treatment with alendronate plus calcium, alendronate alone, or calcium alone for postmenopausal low bone mineral density. *Curr. Med. Res. Opin.*, 23, 1341-1349.
- [9] Burri B.J., La Frano M.R., Zhu C.: Absorption, metabolism, and functions of  $\beta$ -cryptoxanthin. *Nutr. Rev.*, 2016, 74, 69-82.
- [10] Chan D.C., Yang R.S., Ho C.H., Tsai Y.S., Wang J.J., Tsai K.T.: The use of alendronate is associated with a decreased incidence of type 2 diabetes mellitus – A population-based cohort study in Taiwan. *PLoS One*, 2015, 10 (4), #0123279.
- [11] Chen S.-Y., Yu H.-T., Kao J.-P., Yang C.-C., Chiang S.-S., Mishchuk D.O., Mau J.-L., Slupsky C.M.: An NMR metabolomic study on the effect of alendronate in ovariectomized mice. *PLoS One*, 2014, 9, #106559.
- [12] Cho G.J., Shin J.H., Yi K.W., Park H.T., Kim T., Hur J.Y., Kim S.H.: Serum calcium level is associated with metabolic syndrome in elderly women. *Maturitas*, 2011, 68, 382-386.
- [13] Clugston R.D.: Carotenoids and fatty liver disease: Current knowledge and research gaps. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell. Biol. Lipids*, 2020, 1865, #158597.
- [14] Costa G., Vasconcelos Q., Abreu G., Albuquerque A., Vilarejo J., Aragão G.: Changes in nutrient absorption in children and adolescents caused by fructans, especially fructooligosaccharides and inulin. *Arch. Pediatr.*, 2020, 27, 166-169.
- [15] El-Zeftawy M., Ali S.A.E.M., Salah S., Hafez H.S.: The functional nutritional and regulatory activities of calcium supplementation from eggshell for obesity disorders management. *J. Food Biochem.*, 2020, 44 (8), #13313.
- [16] Funcke J.B., Scherer P.E.: Beyond adiponectin and leptin: Adipose tissue-derived mediators of inter-organ communication. *J. Lipid Res.*, 2019, 60, 1648-1697.
- [17] Gallagher C., Tella S.: Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2014, 142, 155-170.
- [18] Ganesan G., Vijayaraghavan P.: Urinary N-telopeptide: The new diagnostic test for osteoporosis. *Surg. J.*, 2019, 5 (1), e1-e4.
- [19] Ghahremanloo A., Hajipour R., Hemmati M., Moossavi M., Mohaqiq Z.: The beneficial effects of pumpkin extract on atherogenic lipid, insulin resistance and oxidative stress status in high-fat diet-induced obese rats. *J. Complement. Integr. Med.*, 2017, 15 (2), #20170051.
- [20] He L., Qian Y., Ren X., Jin Y., Chang W., Li J., Chen Y., Song X., Tang H., Ding L., Guo D., Yao Y.: Total serum calcium level may have adverse effects on serum cholesterol and triglycerides among female university faculty and staffs. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2014, 157, 191-194.
- [21] Hodson L., Banerjee R., Rial B., Arlt W., Adiels M., Boren J., Marinou K., Fisher C., Mostad I.L., Stratton I.M., Barrett P.H.R., Chan D.C., Watts G.F., Harnden K., Karpe F., Fielding B.A.:

- Menopausal status and abdominal obesity are significant determinants of hepatic lipid metabolism in women. *J. Am. Heart Assoc.*, 2015, 4 (10), #002258.
- [22] Huang T.-H., Mühlbauer R.C., Tang C.-H., Chen H.-I., Chang G.-L., Huang Y.-W., Lai Y.-T., Lin H.-S., Yang W.-T., Yang R.-S.: Onion decreases the ovariectomy-induced osteopenia in young adult rats. *Bone*, 2008, 42, 1154-1163.
- [23] Jung S.R., Kim S.H., Ahn N.Y., Kim K.J.: Changes of bone metabolism based on the different interventions with exercise type or additional intake material in ovariectomized rats. *J. Exerc. Nutr. Biochem.*, 2014, 18, 111-117.
- [24] Jürimäe J., Mäestu E., Mengel E., Remmel L., Purge P., Tillmann V.: Association between dietary calcium intake and adiposity in male adolescents. *Nutrients*, 2019, 11 (7), #1454.
- [25] Karimi Fard M., Aminorroaya A., Kachuei A., Salamat M.R., Hadi Alijanvand M., Aminorroaya Yamini S., Karimifar M., Feizi A., Amini M.: Alendronate improves fasting plasma glucose and insulin sensitivity, and decreases insulin resistance in prediabetic osteopenic postmenopausal women: A randomized triple-blind clinical trial. *J. Diabetes Investig.*, 2019, 10, 731-737.
- [26] Ko Y.-J., Wu J.-B., Ho H.-Y., Lin W.-C.: Antosteoporotic activity of Davallia formosana. *J. Ethnopharmacol.*, 2012, 139, 558-565.
- [27] Krupa-Kozak U., Świątecka D., Bączek N., Brzóska M.M.: Inulin and fructooligosaccharide affect: *In vitro* calcium uptake and absorption from calcium-enriched gluten-free bread. *Food Funct.*, 2016, 7, 1950-1958.
- [28] Kulczyński B., Suliburska J., Rybarczyk M., Gramza-Michałowska A.: The effect of osmotic dehydration conditions on the calcium content in plant matrice. *Food Chem.*, 2021, 343, #128519.
- [29] Lee M.Y., Kim H.Y., Singh D., Yeo S.H., Baek S.Y., Park Y.K., Lee C.H.: Metabolite profiling reveals the effect of dietary Rubus coreanus vinegar on ovariectomy-induced osteoporosis in a rat model. *Molecules*, 2016, 21 (2), #149.
- [30] Li L., Li P., Xu L.: Assessing the effects of inulin-type fructan intake on body weight, blood glucose, and lipid profile: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Sci. Nutr.*, 2021, 9, 4598-4616.
- [31] Liu F., Prabhakar M., Ju J., Long H., Zhou H.-W.: Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2017, 71, 9-20.
- [32] Lizcano F., Guzmán G.: Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *Biomed. Res. Int.*, 2014, #757461.
- [33] Manolagas S.C.: From estrogen-centric to aging and oxidative stress: A revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr. Rev.*, 2010, 31, 266-300.
- [34] Monteleone P., Mascagni G., Giannini A., Genazzani A.R., Simoncini T.: Symptoms of menopause – Global prevalence, physiology and implications. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2018, 14, 199-215.
- [35] Rani V., Deep G., Singh R.K., Palle K., Yadav U.C.S.: Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci.*, 2016, 148, 183-193.
- [36] Raschka L., Daniel H.: Mechanisms underlying the effects of inulin-type fructans on calcium absorption in the large intestine of rats. *Bone*, 2005, 37, 728-735.
- [37] Reeves P.G., Suppl M.: Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet 1, 2. *Exp. Biol.*, 1997, 127, 838-841.
- [38] Reis S.A., Conceição L.L., Rosa D.D., Dias M.M., Peluzio M.: Mechanisms used by inulin-type fructans to improve the lipid profile. *Nutr. Hosp.*, 2014, 31, 528-534.
- [39] Sajuthi S.P., Sharma N.K., Comeau M.E., Chou J.W., Bowden D.W., Freedman B.I., Langefeld C.D., Parks J.S., Das S.K.: Genetic regulation of adipose tissue transcript expression is involved in modulating serum triglyceride and HDL-cholesterol. *Gene*, 2017, 632, 50-58.

- [40] Schwartz A.V., Schafer A.L., Grey A., Vittinghoff E., Palermo L., Lui L.-Y.L., Wallace R.B., Cummings S.R., Black D.M., Bauer D.C., Reid I.R.: Effects of antiresorptive therapies on glucose metabolism: Results from the FIT, HORIZON-PFT, and FREEDOM trials. *J. Bone Miner. Res.*, 2013, 28, 1348-1354.
- [41] Song H., Sun Z.: Hypolipidaemic and hypoglycaemic properties of pumpkin polysaccharides. *3 Biotech.*, 2017, 7, #159.
- [42] Stachowska E., Portincasa P., Jamioł-Milc D., Maciejewska-Markiewicz D., Skonieczna-Żydecka K.: The relationship between prebiotic supplementation and anthropometric and biochemical parameters in patients with nafld – a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 2020, 12 (11), #3460.
- [43] Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K., Ikoma Y., Yano M.: High serum carotenoids are associated with lower risk for developing elevated serum alanine aminotransferase among Japanese subjects: The Mikkabi cohort study. *Br. J. Nutr.*, 2016, 115, 1462-1469.
- [44] Takahashi T.A., Johnson K.M.: Menopause. *Med. Clin. North Am.*, 2015, 99, 521-534.
- [45] Wawrzyniak N., Suliburska J.: Nutritional and health factors affecting the bioavailability of calcium: A narrative review. *Nutr. Rev.*, 2021, 79 (12), 1307-1320.
- [46] Wu F., Pahkala K., Juonala M., Rovio S.P., Sabin M.A., Rönnemaa T., Smith K.J., Jula A., Lehtimäki T., Hutri-Kähönen N., Kähönen M., Laitinen T., Viikari J.S.A., Raitakari O.T., Magnussen C.G.: Childhood and long-term dietary calcium intake and adult cardiovascular risk in a population with high calcium intake. *Clin. Nutr.*, 2021, 40, 1926-1931.
- [47] Yao Y., He L., Jin Y., Chen Y., Tang H., Song X., Ding L., Qi Q., Huang Z., Wang Q., Yu J.: The relationship between serum calcium level, blood lipids, and blood pressure in hypertensive and normotensive subjects who come from a Normal University in East of China. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2013, 153, 35-40.

#### EFFECT OF CALCIUM-ENRICHED PUMPKIN ON SELECTED BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS IN RATS AFTER OVARIECTOMY

##### S u m m a r y

Calcium deficiency has been often noted in the diet of women, therefore it is important to search for new sources of this essential mineral. One of the innovative products is a calcium-enriched pumpkin. Supplying the body with easily assimilable calcium may have a decreasing effect on the symptoms associated with menopause.

The objective of the research study was to determine the effect of calcium lactate-enriched, osmotically dehydrated pumpkin used to feed the ovariectomised rats on the changes in biochemical parameters of their blood. The research study was conducted on the 12-week-old female Wistar rats. The animals were divided into 8 groups ( $n = 10$ ), 7 of which had ovariectomy. The rats were fed a standard diet that was modified depending on the group: 1) control K(-) – a standard diet (not modified), 2) control K(+) of ovariectomised rats – a standard diet (not modified), 3) OVXDEF – a calcium-deficient diet, 4) OVXP – a not enriched pumpkin diet, 5) OVXCaL – a calcium lactate diet, 6) OVXPCaL – a calcium lactate-enriched pumpkin diet, 7) OVXCaLA – a calcium lactate diet with potassium alendronate added, 8) OVXPCaLA – a calcium-enriched pumpkin diet with alendronate added. 12 weeks after the intervention, an analysis of the bodies of rats was performed; next, the animals were decapitated and their blood was drawn for analysis. In the blood serum there were determined: the lipid profile, ALT and AST aminotransferases and glucose. It was proved that the ovariectomy significantly impacted the increase in the body-

weight of rats, fat content, ALT level and it adversely impacted the lipid profile. Furthermore, it was reported that the calcium-enriched pumpkin significantly reduced the levels of alanine aminotransferase and triglycerides in the blood of rats after ovariectomy. The overall conclusion is that the calcium lactate-enriched pumpkin normalises the parameters of liver function and the lipid parameters in rats after ovarian removal surgery.

**Key words:** enriched pumpkin, calcium, ovariectomy, lipid profile, transaminases 

BARBARA BORCZAK, MAREK SIKORA, ELŻBIETA SIKORA,  
JOANNA KAPUSTA-DUCH

**WPŁYW DODATKU WYBRANYCH SUBSTANCJI INTENSYWNIE  
SŁODZĄCYCH NA WARTOŚĆ INDEKSU GLIKEMICZNEGO  
*IN VITRO* HERBATNIKÓW BEZCUKROWYCH**

**S t r e s z c z e n i e**

Zastosowanie alternatywnych substancji słodzących (pololi i/lub intensywnych substancji słodzących) do produkcji ciastek bezcukrowych może być nie tylko innowacyjnym, ale również przyszłościowym rozwiązaniem problemu związanego z chęcią spożywania słodkich produktów przekąskowych przez osoby cierpiące na cukrzycę. Cukrzyca typu 2 to poważna przewlekła choroba niezakaźna, która stanowi ok. 90 % wszystkich przypadków tego schorzenia na świecie i jest jedną z pięciu głównych przyczyn zgonów.

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania zamienników sacharozy (wybranych substancji intensywnie słodzących) na zmiany zawartości frakcji skrobi oraz wartość indeksu glikemicznego herbatników pszennych mierzony metodą *in vitro*. Materiał doświadczalny stanowiły 4 rodzaje herbatników pszennych: 1) z sacharozą (SA) – stanowiące próbę kontrolną, 2) z dodatkiem glikozydów stewiolowych (ST), 3) z dodatkiem acesulfamu K (ACE), 4) z dodatkiem sukralozy (SU). W badaniach wykazano istotny wpływ zastosowania zamienników sacharozy na zwiększenie zawartości skrobi szybko trawionej (RDS) ( $p < 0,05$ ) oraz brak istotnego wpływu na zawartości skrobi opornej i skrobi wolno trawionej (SDS) ( $p > 0,05$ ), z wyjątkiem ilości frakcji SDS w herbatnikach z dodatkiem sukralozy ( $p < 0,05$ ). Indeks glikemiczny *in vitro* wszystkich badanych herbatników pszennych był wysoki i mieścił się w zakresie 78,36  $\div$  90,51 % s.m. Zastosowanie substancji intensywnie słodzących do produkcji herbatników bezcukrowych wymaga dalszych badań, w tym modyfikacji opracowanych receptur z zastosowaniem innych związków lub mieszanin związków należących do alternatywnych substancji słodzących.

**Słowa kluczowe:** herbatniki pszenne, zamienniki sacharozy, skrobia, indeks glikemiczny

---

*Dr hab. inż. B. Borczak, prof. URK, prof. dr hab. E. Sikora, dr hab. inż. J. Kapusta-Duch, prof. URK, Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki, prof. dr hab. inż. M. Sikora, Katedra Technologii Węglowodanów i Przetwórstwa Zbóż, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków.  
Kontakt: barbara.borczak@urk.edu.pl*

## **Wprowadzenie**

Cukrzyca typu 2 stała się poważnym problemem w wielu krajach i stanowi ok. 90 % wszystkich przypadków tej choroby na świecie. Jest to również jedna z pięciu głównych przyczyn zgonów [21]. Problem ten jest bardzo istotny, gdyż według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2030 r. cukrzyca typu 2 będzie siódmym w kolejności schorzeniem odpowiedzialnym za śmiertelność populacji światowej, a liczba osób dotkniętych tą chorobą ulegnie podwojeniu [18]. Osoby cierpiące na cukrzycę powinny codziennie kontrolować spożycie cukrów prostych ze względu na ich szybkie wchłanianie do krwiobiegu, skutkujące zwiększym stężeniem glukozy, czyli hiperglikemią (powyżej 180 mg/dl). Nawet bardzo krótkotrwała hiperglikemia może powodować zwiększone ryzyko infekcji, a także wystąpienia zastoinowej niewydolności serca, wstrząsu kardiogennego, zmian skórnych, chorób stawów, chorób naczyniowych mózgu, niewydolności nerek, czy w rezultacie doprowadzić do śpiączki cukrzycowej [6]. Jednocześnie obserwuje się niepożądane nawyki żywieniowe wśród osób dotkniętych cukrzycą. Z badań wynika, że 42,86 % pacjentów z cukrzycą typu 1 spożywało słodycze raz w miesiącu, 34,69 % – kilka razy w tygodniu, 14,29 % – raz dziennie, a 6,12 % – nawet 3 razy w ciągu dnia. Z kolei w przypadku pacjentów z cukrzycą typu 2 62,96 % spożywało słodycze kilka razy w miesiącu, 22,22 % – kilka razy w tygodniu, a 7,41 % – raz dziennie [25]. Powyższe dane na temat częstotliwości spożycia słodkich produktów przekąskowych przez osoby dotknięte tym schorzeniem wskazują na konieczność prowadzenia badań ukierunkowanych na tworzenie nowego asortymentu produktów, z przeznaczeniem dla chorych na cukrzycę. Jednym z możliwych rozwiązań może być zastosowanie alternatywnych substancji słodzących, w tym środków intensywnie słodzących. Ich użycie regulowane jest przez Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1131/2011 [24] w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Związki te charakteryzują się od kilkuset do kilku tysięcy razy większą intensywnością słodyczy w odniesieniu do sacharozy [19] i nie są trawnione w przewodzie pokarmowym człowieka do produktów dostarczających energię. Ze względu na wyjątkową słodkość ich zawartość w produktach spożywczych jest bardzo mała, dlatego wartość energetyczna może być pominięta [4]. Zastosowanie alternatywnych substancji słodzących (polioli i intensywnych substancji słodzących) do produkcji ciastek bezcukrowych opisali wcześniej Lin i wsp. [17], Górecka i wsp. [12] oraz Kutyła-Kupidura i wsp. [16]. Badania te koncentrowały się głównie na parametrach jakościowych, takich jak tekstura, reologia ciasta czy ocena organoleptyczna.

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania zamienników sacharozy (wybranych substancji intensywnie słodzących) na zmiany zawartości frakcji skrobi i wartość indeksu glikemicznego herbatników pszennych mierzoną metodą *in vitro*.

## Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły 4 rodzaje herbatników z mąki pszennej, którym nadano odpowiednie symbole w celu ułatwienia identyfikacji: SA – herbatniki z sacharozą (próba kontrolna), ST – herbatniki z dodatkiem glikozydów stewiolowych, ACE – herbatniki z dodatkiem acesulfamu K, SU – herbatniki z dodatkiem sukralozy.

Do przygotowania ciasta pszennego użyto następujących składników: 500 g mąki pszennej (typu 450, Polskie Zakłady Zbożowe PZZ w Krakowie, Polska), 250 g margaryny („Kasia” Unilever, Warszawa, Polska), 150 g jaj (Ferma Drobū Woźniak Sp. z o.o., Rawicz, Polska), 6 g proszku do pieczenia (Dr. Oetker Polska Sp. z o.o., Gdańsk, Polska), substancję słodzącą w zależności od rodzaju herbatników: (i) 200 g sacharozy (cukier „Królewski”, Südzucker Polska S.A., Wrocław, Polska) lub (ii) 1 g glikozydów stewiolowych (NL. Stevia, Paragwaj) lub (iii) 1 g acesulfamu K (Hortimex, Polska) lub (iv) 0,33 g sukralozy (Hortimex, Polska).

Masę dodanego środka słodzącego obliczono z uwzględnieniem wrażenia słodkiego smaku (STS) w stosunku do STS sacharozy, której wartość wynosi 1 [16].

Składniki łączono, homogenizowano przez 5 min w blenderze SP 25 2V (Conti s.r.l., Bussolengo, Włochy) i przekładano do chłodziarki (4 °C, 30 min), po czym rozwałkowywano do grubości 7 mm i wycinano przy użyciu okrągłej foremki herbatniki o średnicy 3,5 cm. Następnie poddawano je wypiekowi w temp. 180 °C w ciągu 30 min w piecu C-32 (MIWE Michael Wentz GmbH, Arnstein, Niemcy).

Zawartość suchej masy [2] oraz skrobi całkowitej (ang. *total starch*, TS), skrobi wolno trawionej (ang. *slowly digestible starch*, SDS) i szybko trawionej (ang. *rapidly digestible starch*, RDS) oraz wartość indeksu glikemicznego *in vitro* (ang. *starch digestion index*, SDI) oznaczano w świeżo upieczonych herbatnikach, które w celu otrzymania jednolitej próby laboratoryjnej mielono w kuchennej maszynce do mięsa (MM1000.88, Zelmer, Rogoźnica, Polska).

Wartość indeksu glikemicznego herbatników pszennych oznaczano metodą En-glysta i wsp. [5], w modyfikacji Chunga i wsp. [7]. Używano następujących roztworów enzymów: amyloglukozydazy (3300 U/ml, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia), invertazy (I4504, 300 U/mg, Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) oraz α-amylazy z trzustki wieprzowej (P-7545, Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA). Stężenie glukozy oznaczano metodą kolorimetryczną przy użyciu mieszaniny enzymów oksydazy glukozowej i peroksydazy (K-GLOX 09/12, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia). Całkowita zawartość skrobi (TS) obliczano na podstawie sumy zawartości skrobi opornej (RS) i skrobi rozpuszczalnej (SS), które oznaczano przy użyciu zestawu enzymatycznego (K-RSTAR 08/11, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia). Oznaczano także zawartość wolnej glukozy (FG) oraz glukozy zhydrolizowanej po 20 (G<sub>20</sub>) i 120 min (G<sub>120</sub>) trawienia. Na podstawie wyników wymienionych wyróżników obliczano parametry: RDS = (G<sub>20</sub> – FG) × 0,9, SDS = (G<sub>120</sub> –

$G_{20}) \times 0,9$  i  $SDI = RDS/TS \times 100$ . Pomiary frakcji skrobi wykonano w trzech powtórzeniach.

Zawartość analizowanych parametrów wykonywano każdorazowo w trzech powtórzeniach. Do oceny wpływu zastosowania zamienników sacharozy na całkowitą zawartość skrobi, frakcji RDS, SDS, i suchej masy oraz wskaźnika SDI w herbatnikach pszennych zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana ( $p < 0,05$ ). Obliczenia wykonywano przy użyciu programu Statistica, v.12 software (Statsoft, Inc., USA).

### Wyniki i dyskusja

Wyniki przeprowadzonych analiz strawności skrobi przedstawiono w tab. 1.

Zawartość suchej masy badanych herbatników wała się w zakresie 93,94  $\div$  95,71 %, co odpowiada wartościom tego parametru w herbatnikach pszennych (93,08  $\div$  97,13 %), podawanym przez innych autorów [1, 11]. Najmniejszą zawartością suchej masy charakteryzowały się herbatniki z acesulfamem K, natomiast największą – herbatniki z glikozydami stiewiowymi ( $p < 0,05$ ). Różnice zawartości suchej masy w badanych herbatnikach mogą być spowodowane niejednakowym stopniem parowania wody z ciasta podczas wypieku [14].

Tabela 1. Wybrane parametry w herbatnikach pszennych z dodatkiem substancji intensywnie słodzących  
Table 1. Selected components in wheat cookies with strong sweeteners added

Symbol próby Symbol of sample	Sucha masa Dry matter	Skrobia całkowita Total starch	Skrobia wolno trawiona Slowly digestible starch	Skrobia szybko trawiona Rapidly digestible starch	Skrobia oporna Resistant starch	Wskaźnik trawienia skrobi Starch digestion index
			[g/100 g]	[g/100 g s.m. / d.m.]		[% s.m. / d.m.]
SA	94,3 <sup>c</sup> $\pm$ 0,6	40,48 <sup>b</sup> $\pm$ 1,2	3,14 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,7	30,98 <sup>c</sup> $\pm$ 2,5	8,22 <sup>a</sup> $\pm$ 4,7	77,60 <sup>ab</sup> $\pm$ 5,8
ST	95,7 <sup>d</sup> $\pm$ 0,1	53,44 <sup>c</sup> $\pm$ 1,2	5,64 <sup>b</sup> $\pm$ 1,2	40,11 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,9	7,68 <sup>a</sup> $\pm$ 1,7	75,08 <sup>a</sup> $\pm$ 3,7
ACE	93,9 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	51,23 <sup>a</sup> $\pm$ 1,5	0,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,5	42,98 <sup>b</sup> $\pm$ 3,2	8,32 <sup>a</sup> $\pm$ 0,3	85,02 <sup>b</sup> $\pm$ 4,2
SU	94,6 <sup>c</sup> $\pm$ 0,1	49,68 <sup>a</sup> $\pm$ 0,9	9,48 <sup>c</sup> $\pm$ 3,0	38,13 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	2,08 <sup>b</sup> $\pm$ 1,5	76,74 <sup>ab</sup> $\pm$ 3,5

Objaśnienia / Explanatory notes:

ST – glikozydy stiewiowe / stiewiol glycosides, SU – sukraloza / sucralose, ACE – acesulfam K / acesulfame K, SA – sacharoza / saccharose; a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly ( $p < 0,05$ ).

W literaturze przedmiotu brak jest informacji na temat zawartości frakcji skrobi w herbatnikach, w których sacharoza została zastąpiona wybranymi substancjami intensywnie słodzącymi. Całkowita zawartość skrobi (TS) wała się w przedziale 40,48

÷ 53,44 g/100 g s.m., co odpowiada wartościom tego parametru podawanym przez innych autorów w herbatnikach pszennych oraz w produktach zbożowych (48 ÷ 80 g/100 g s.m.) [7, 10]. Największą zawartość TS oznaczono w herbatnikach z dodatkiem glikozydów stiewiolowych – 53,44 g/100 g s.m., natomiast najmniejszą w herbatnikach z sacharozą – 40,48 g/100 g s.m. ( $p < 0,05$ ). Wynik ten był najprawdopodobniej spowodowany najmniejszym udziałem mąki w herbatnikach z sacharozą, ponieważ w tym przypadku zastosowano 200 g tego dwucukru. Z kolei w odniesieniu do glikozydów stiewiolowych, acesulfamu K oraz sukralozy dodatek ww. związków wyniósł jedynie [g]: 1, 1 i 0,33.

Po przeanalizowaniu zawartości skrobi wolno trawionej SDS nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy herbatnikami z glikozydami stiewiolowymi, acesulfamem K i sacharozą ( $p > 0,05$ ), natomiast herbatniki z sukralozą zawierały istotnie najczęściej analizowanej frakcji ( $p < 0,05$ ) – tab. 1. Zawartość SDS w herbatnikach z sacharozą [7, 10] oraz w herbatnikach bezcukrowych z dodatkiem polioli [3] mieściła się w zakresie 3,7 ÷ 10,2 g/100g s.m. W badaniach własnych wartości SDS wszystkich badanych herbatników zawierały się w podanym przedziale, z wyjątkiem herbatników z dodatkiem acesulfamu K (0,51 g/100 g s.m.).

Pod względem zawartości frakcji szybko trawionej skrobi (RDS) nie zaobserwowało różnic statystycznie istotnych pomiędzy herbatnikami z zastosowanymi substancjami słodzącymi ( $p > 0,05$ ). Według danych literaturowych zawartość RDS w herbatnikach bezcukrowych z dodatkiem polioli wynosiła 11,3 ÷ 49,0 g/100 g s.m. [3], a w herbatnikach z sacharozą – 32,9 ÷ 37,0 g/100 g s.m. [7, 10], co odpowiada wartościom uzyskanym w niniejszym opracowaniu.

Zawartość skrobi opornej (RS) w badanych herbatnikach nie różniła się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ), z wyjątkiem herbatników z dodatkiem sukralozy ( $p < 0,05$ ). Wartości RS mieściły się w zakresie 2,2 ÷ 8,9 g/100 g s.m. Dane literaturowe wskazują na podobne wartości mieszczące się w granicach 1,0 ÷ 20,5 g/100 g s.m. w odniesieniu zarówno do herbatników z sacharozą, jak i herbatników bezcukrowych z dodatkiem polioli [3, 7, 10].

Ewentualne różnice zawartości poszczególnych frakcji skrobi w badanych herbatnikach mogą wynikać z właściwości fizykochemicznych zastosowanych substancji słodzących. Udowodniono bowiem, że sacharoza, sukralosa oraz glikozydy stiewiowe mogą opóźniać i ograniczać proces kleikowania skrobi, co w rezultacie jest następstwem współzawodnictwa ww. związków ze skrobią oraz glutenem o wodę [14, 16, 26]. Jednocześnie acesulfam K, który chemicznie jest solą potasową, nie ma zbyt dużych właściwości higroskopijnych i tym samym nie współzawodniczy w pochłanianiu wody z innymi substancjami chemicznymi [16]. Suma zawartości skrobi opornej oraz skrobi wolno trawionej (RS + SDS) wyniosła [g]: 11,36, 13,32 oraz 11,56, odpowiednio: w herbatnikach z dodatkiem sacharozy, glikozydów stiewiolowych i sukralozy,

natomiast mniejszą wartość tej sumy (8,83 g) uzyskano w herbatnikach z dodatkiem acesulfamu K (tab. 1).

Jednym z najważniejszych aspektów pracy było zbadanie wpływu zastosowania zamienników sacharozy (wybranych substancji intensywnie słodzących) na wartość indeksu glikemicznego mierzonego *in vitro*, czyli wyrażonego jako wskaźnik trawienia skrobi [% s.m.]. Wartości SDI badanych herbatników zawierały się w przedziale: 78,36  $\div$  90,51 % s.m. i nie wykazano statystycznie istotnych różnic ( $p > 0,05$ ) pomiędzy poszczególnymi rodzajami ciastek. Uzyskane wartości SDI mieściły się w zakresach 77  $\div$  82,3 % oraz 29,6  $\div$  81,4 % podawanych przez innych autorów, odpowiednio w herbatnikach z dodatkiem sacharozy oraz w herbatnikach bezcukrowych [3, 7]. Produkty spożywcze zawierające węglowodany dzieli się na trzy grupy: produkty o niskim indeksie glikemicznym ( $IG < 55\%$ ), produkty o średnim indeksie glikemicznym ( $IG 55 \div 69\%$ ) oraz produkty o wysokiej wartości tego wskaźnika ( $IG > 70\%$ ) [22, 23]. Udowodniono, że parametry strawności skrobi mierzonej *in vitro* w istotny sposób umożliwiają przewidywanie indeksu glikemicznego *in vivo* [7, 8, 13]. Na strawność skrobi w produktach zbożowych wpływa wiele czynników, w tym m.in. zawartość wody w produkcie, czas i temperatura wypieku, stosunek amylozy do amylopektyny, proces przechowywania, obecność innych składników żywności, takich jak: białka, tłuszcze, polifenole, błonnik pokarmowy czy rodzaj substancji słodzącej [20]. Największą wartością indeksu glikemicznego *in vitro* charakteryzowały się herbatniki z dodatkiem acesulfamu K, co może wynikać z największej zawartości skrobi szybko trawionej RDS przy najmniejszej ilości frakcji wolno trawionej SDS. Jednocześnie najmniejszą wartość indeksu glikemicznego *in vitro* zaobserwowano w herbatnikach z dodatkiem glikozydów stiewiolowych, któremu towarzyszyła mała zawartość RDS i stosunkowo duża ilość frakcji SDS. Pomimo przedstawionych różnic zamiana sacharozy na wybrane substancje intensywnie słodzące (sukralozę, acesulfam K oraz glikozydy stiewiolowe) nie wpłynęła na statystycznie istotne obniżenie wartości indeksu glikemicznego *in vitro*.

Zastosowanie intensywnych substancji słodzących w produkcji herbatników bezcukrowych wymaga dalszych badań, w tym modyfikacji opracowanych receptorów z użyciem innych związków lub mieszanin związków należących do alternatywnych substancji słodzących.

## Wnioski

1. Dodatek substancji intensywnie słodzących przyczynił się do istotnego zwiększenia wartości szybko trawionej skrobi RDS w herbatnikach bezcukrowych ( $p < 0,05$ ).
2. Zawartość skrobi wolno trawionej SDS nie wykazywała statystycznie istotnych zmian pomiędzy herbatnikami z glikozydami stiewiolowymi, acesulfamem K i sa-

- charozą ( $p > 0,05$ ), natomiast herbatniki z sukralozą zawierały istotnie największą zawartość tej frakcji ( $p < 0,05$ ).
3. Zamiana sacharozy na substancje intensywnie słodzące nie wpłynęła na zawartość skrobi opornej RS w herbatnikach bezcukrowych ( $p > 0,05$ ).
  4. Zamiana sacharozy na substancję intensywnie słodzące nie wpłynęła istotnie na obniżenie wartości indeksu glikemicznego *in vitro* ( $p > 0,05$ ).

### Literatura

- [1] Aboshora W., Yu J., Omar K.A., Li Y., Hassanin H.A.M., Navich W.B., Zhang L.: Preparation of Doum fruit (*Hyphaene thebaica*) dietary fiber supplemented biscuits: Influence on dough characteristics, biscuits quality, nutritional profile and antioxidant properties. *J. Food Sci. Technol.*, 2019, 56 (3), 1328-1336.
- [2] AOAC: Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg 2006.
- [3] Borczak B., Sikora E., Sikora M., Kutyła-Kupidura E.M., Kapusta-Duch J.: Nutritional properties of sugar-free wheat-flour cookies. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2018, 595, 21-28.
- [4] Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R.: Artificial sweeteners – a review. *J. Food Sci. Technol.*, 2014, 51, 611-621.
- [5] Chung H.J., Liu Q., Hoover R.: Effect of single and dual hydrothermal treatments on the crystalline structure, thermal properties, and nutritional fractions of pea, lentil, and navy bean starches. *Food Res. Int.*, 2010, 43, 501-508.
- [6] World Health Organization: HEARTS D: Diagnosis and management of type 2 diabetes. WHO, Geneva 2020.
- [7] Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H.: Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1992, 46 (Suppl.), 33-50.
- [8] Englyst H.N., Veenstra J., Hudson G.J.: Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods as *in vitro* predictor of glycaemic response. *Brit. J. Clin. Nutr.*, 1996, 73, 327-337.
- [9] Garcia-Alonso A., Jiménez-Escríg A., Martín-Carrón N., Bravo L., Saura-Calixto F.: Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chem.*, 1999, 66, 181-187.
- [10] Giuberti G., Gallo A., Fortunati P., Rossi F.: Influence of high-amyllose maize starch addition on *in vitro* starch digestibility and sensory characteristics of cookies. *Starch/Stärke*, 2016, 68 (5-6), 469-475.
- [11] Gondim de Albuquerque J., Duarte A.M., Da Conceição M.L., De Souza Aquino J.: Integral utilization of seriguela fruit (*Spondias purpurea* L.) in the production of cookies. *Rev. Bras. Frutic.*, 2016, 38 (3), #229.
- [12] Górecka D., Koreczak J., Borowska-Parus A.: Zastosowanie substancji słodzących w wyrobach ciastkarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 6 (55), 210-218.
- [13] Grandfeldt Y., Hagander B., Björck I.: Metabolic responses to starch in oat and wheat products. On the importance of food structure, incomplete gelatinization or presence of vicious dietary fiber. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1995, 49, 189-199.
- [14] Karp S., Wyrwisz J., Kurek M., Wierzbicka A.: Physical properties of muffins sweetened with steviol glycosides as the sucrose replacement. *Food Sci. Biotechnol.*, 2016, 25 (6), 1591-1596.

- [15] Kowalski S., Lukasiewicz M.: Wpływ warunków wypieku kruchych ciastek na powstawanie wybranych pochodnych furanowych oraz zmianę potencjału antyoksydacyjnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 1 (92), 187-199.
- [16] Kutyła-Kupidura E.M., Sikora M., Krystyjan M., Dobosz A., Kowalski S., Pysz M., Tomaszik P.: Properties of sugar-free cookies with xylitol, sucralose, acesulfame K and their blends. *J. Food Process Eng.*, 2015, 39 (4), 321-329.
- [17] Lin S.H., Lee C.C., Mau J.L., Lin L.Y., Chiou S.Y.: Effects of erythritol on quality characteristic of reduced-calorie Danish cookies. *J. Food Qual.*, 2010, 33, 14-26.
- [18] Mathers C.D., Loncar D.: Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLOS Med.*, 2006, 3 (11), #442.
- [19] O'Brien Nabors L.: Alternative Sweeteners. CRC Press Inc., New York City 2001.
- [20] Pellegrini N., Vittadini E., Vincenzo F.: Designing food structure to slow down digestion in starch-rich products. *Cur. Opin. Food Sci.*, 2020, 32, 50-57.
- [21] Pico J., Bernal J., Gomez M.: Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Res. Int.*, 2015, 75, 200-215.
- [22] Powell K.F., Holt H.A., Brand-Miller J.C.: International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, 76, 5-56.
- [23] Reguła J., Gramza-Michałowska A.: Wartość odżywcza oraz indeks glikemiczny produktów zbożowych z dodatkiem suszu boczniaka ostrygowego (*Pleurotus ostreatus*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 5 (90), 119-128.
- [24] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1131/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do glikozydów stiewiolowych. Dz. U. L 295, ss. 205-211, z 12.11. 2011.
- [25] Szewczyk A., Bialek A., Kukielczak A., Czech N., Kokot T., Muc-Wierzgoń M., Nowakowska-Zajdel E., Klakla K.: Ocena sposobu żywienia osób chorujących na cukrzycę typu 1 i 2. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, 92 (2), 267-271.
- [26] Torres M.D., Raymundo A., Sousa I.: Effect of sucrose, stevia and xylitol on rheological properties of gels from blends of chestnut and rice flours. *Carbohydr. Polym.*, 2013, 98, 249-256.

#### EFFECT OF ADDED SELECTED STRONG SWEETENERS ON *IN VITRO* GLYCAEMIC INDEX VALUE OF SUGAR-FREE COOKIES

##### S u m m a r y

The application of alternative sweeteners (polyols and/or strong sweeteners) in the production of sugar-free cookies can be not only an innovative, but also a prospective solution to a problem relating to diabetics wanting to consume sweet snacks. Type 2 Diabetes (T2D) is a severe, chronic, non-communicable disease that constitutes ca. 90 % of all diabetes cases around the world and it is one of top 5 causes of deaths.

The objective of the research study was to determine the effect of the use of saccharose substitutes (some selected strong sweeteners) on changes in the content of starch fraction in wheat cookies and in the value of glycemic index thereof measured by an *in vitro* method. The experimental material consisted of 4 types of wheat cookies: 1) with saccharose (SA) – constituting a control sample, 2) with steviol glycosides (ST) added, 3) with acesulfame K (ACE) added, 4) with sucralose (SU) added. Under the research studies performed, a significant effect was shown of the use of saccharose substitutes on the increase in the content of rapidly digestible starch (RDS) ( $p < 0.05$ ) as was no significant effect on the content of resistant

starch and slowly digestible starch (SDS) ( $p > 0.05$ ), except for the amount of SDS fraction in the cookies with sucralose ( $p < 0.05$ ). The *in vitro* glycemic indices of all the wheat cookies analysed were high and ranged 78.36 ÷ 90.51 % d.m. The use of strong sweeteners in the production of sugar-free cookies requires further research, including the modification of the developed recipes using other compounds or mixtures of compounds coming under the category of alternative sweeteners.

**Key words:** wheat cookies, saccharose substitutes, starch, glycemic index 

ANNA PLATTA, KAROLINA ŚMIGAJ

## OCENA AKCEPTACJI ŻYWNOŚCI O WŁAŚCIWOŚCIACH PROZDROWOTNYCH PRZEZ KOBIETY W WIEKU 60+

### S t r e s z c z e n i e

Rynek żywności należy do najbardziej innowacyjnych segmentów gospodarki zarówno w ujęciu krajowym, jak i globalnym. Wytwarzanie żywności o podwyższonej jakości, odpowiedniej wartości odżywczej i walorach prozdrowotnych jest swoistym imperatywem dla producentów.

Celem pracy była ocena stopnia akceptacji i częstości spożycia wskazanej żywności o właściwościach prozdrowotnych oraz o obniżonej zawartości tłuszczy przez grupę kobiet, które ukończyły 60. rok życia ( $n = 102$ ). Badania przeprowadzono w 2020 roku metodą Food Attitude Survey (FAS-R). Przy użyciu skali FAS-R oceniono skłonność ankietowanych kobiet do akceptacji produktów, których nigdy wcześniej nie spożywały. Poprzez określenie stopnia tej akceptacji na skali określono listę produktów nowych dla respondentek. Poziom akceptacji innowacji wprowadzonych w produktach żywnościowych zależał od cech socjodemograficznych konsumentek (kobiet powyżej 60. roku życia), takich jak wiek i poziom wykształcenia. Czynniki te determinowały postawy pozytywne i wzrost częstości spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+. Stan zdrowia respondentek nie wpływał w znacznym stopniu na pozytywne postawy względem spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych. Osoby zarówno z „dobrym”, jak i „ani dobrym ani złym” stanem zdrowia wykazywały postawy ambiwalentne wobec żywności o właściwościach prozdrowotnych. Badana grupa kobiet w wieku starszym przy wyborze żywności zwracała uwagę głównie na jej walory smakowe.

**Ślówka kluczowe:** żywność prozdrowotna, postawy, konsument, starsze kobiety (60+), badania ankietowe

### Wprowadzenie

Zarówno w Polsce, jak i na świecie obserwuje się starzenie społeczeństw. Osoby starsze stanowią coraz większą grupę społeczną. Zmagają się one z problemami dotyczącymi niedożywienia, nadwagi czy źle zbilansowanej diety. Na rynku żywnościowym dostępna jest żywność o określonych właściwościach służących utrzymaniu dobrego stanu zdrowia lub wpływającą na jego poprawę [18]. Na polskim rynku

---

*Dr inż. A. Platta, mgr inż. K. Śmigaj, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia.*

*Kontakt: a.platta@wzpj. umg.edu.pl*

największą grupę żywności prozdrowotnej pod względem dostępności stanowią przetwory mleczne, soki i napoje wzbogacone witaminami i/lub składnikami mineralnymi bądź błonnikiem pokarmowym i inuliną [23]. Produkty o właściwościach prozdrowotnych stanowią dobre źródło składników odżywczych zaspokajających potrzeby żywieniowe organizmu oraz zmniejszają ryzyko wystąpienia chorób metabolicznych, np. cukrzycy, miażdżycy i otyłości, na które szczególnie narażone są osoby starsze [28, 32]. Cechy te sprawiają, że żywność funkcjonalna staje się coraz powszechniej spożywana przez różne grupy populacyjne, w tym grupę osób starszych [22]. Badania nad zachowaniami żywieniowymi są podejmowane nie tylko z powodu akademickiej ciekawości naukowców. Szczególny wpływ na rozwój tych badań ma wzrastająca świadomość konsumentów na temat związku między zachowaniami żywieniowymi człowieka a stanem jego zdrowia [7].

Celem pracy była ocena stopnia akceptacji i częstości spożycia wskazanej w badaniu żywności o właściwościach prozdrowotnych oraz o obniżonej zawartości tłuszczy przez kobiety, które ukończyły 60. rok życia.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono w październiku 2020 r. w grupie kobiet w wieku od 60 do 90 lat ( $n = 102$ ). Wszystkie osoby biorące w nich udział pochodziły z Gdańska. Dobór respondentek był celowy i wiązał się z wcześniej przeprowadzonymi badaniami, z których wynikało, że to kobiety wykazują bardziej aktywną postawę względem żywności funkcjonalnej niż mężczyźni [1, 8, 16, 21, 29]. Analizę wyników przeprowadzano z uwzględnieniem trzech czynników różnicujących badaną grupę kobiet: wieku, poziomu wykształcenia i samooceny stanu zdrowia (tab. 1). Największy odsetek respondentek stanowiły starsze kobiety z wykształceniem średnim, a najmniejszy – z wykształceniem podstawowym (tab. 1). Respondentki dokonały samooceny swojego stanu zdrowia na podstawie wyboru 1 z 5 możliwych odpowiedzi: 1 – bardzo zły, 2 – zły, 3 – ani dobry ani zły, 4 – dobry, 5 – bardzo dobry (tab. 1). Zdecydowana większość seniorek nie potrafiła jednoznacznie ocenić swojego stanu zdrowia, dlatego najczęściej wskazywały one, że jest on „ani dobry ani zły”. Żadna z ankietowanych kobiet nie oceniła swojego stanu zdrowia jako „bardzo dobry” (tab. 1).

Badania prowadzono przy użyciu kwestionariusza ankiety techniką wywiadu bezpośredniego. Metodą Food Attitude Survey (FAS-R) [5] oceniano znajomość i stopień akceptacji przez osoby starsze prezentowanych w badaniu produktów spożywczych należących do żywności funkcjonalnej o właściwościach prozdrowotnych oraz produktów o obniżonej zawartości tłuszczy. Wcześniej wykazano, że FAS może być stosowany do precyzyjnego określania indywidualnych różnic we wzorach preferencji pokarmowych. Przy użyciu skali FAS-R oceniano skłonność kobiet w wieku 60+ do akceptacji produktów, których nigdy wcześniej nie spożywały. Poprzez określenie

stopnia tej akceptacji na skali sporządzono listę produktów nowych dla respondentek. Stopień akceptacji produktów ustalano na podstawie następujących stwierdzeń: 1. Nigdy nie próbowałam tego produktu i nigdy nie zamierzam spróbować. 2. Nigdy nie spróbowałam tego produktu, ale spróbowałabym gdybym miała taką możliwość. 3. Nie lubię tego produktu. Smakuje okropnie. 4. Mogę zjeść dany produkt lub go nie zjeść. Smakuje dobrze. 5. Bardzo lubię ten produkt. Myślę, że smakuje dobrze. Produkty, względem których badano postawy starszych kobiet, to: margaryna obniżająca poziom cholesterolu, majonez z kwasami n-3 i n-6, makaron wzbogacony w witaminy i/lub mikro- i makroelementy, mleko zagęszczone wzbogacone w magnez, kefiry i jogurty wzbogacone w wapń, jogurt o 0-procentowej zawartości tłuszczy ogółem, produkty typu light, mleko odtłuszczone 0,5 % lub 1,5 %, ser żółty light, serek wiejski lekki.

Do analizy wyników zastosowano elementy statystyki opisowej: liczebność (n) i procent badanej grupy [%].

Tabela 1. Charakterystyka socjodemograficzna badanej grupy kobiet w wieku 60+  
Table 1. Socio-demographic profile of surveyed group of women aged 60+

Cechy socjodemograficzne konsumentek Socio-demographic profile of female consumers	Liczba wskazań Number of indications [n]	Udział procentowy Percentage [%]
<b>Wiek / Age:</b>		
60 - 74	55	54
75 - 90	47	46
<b>Poziom wykształcenia / Level of education:</b>		
podstawowe / primary education	10	9,8
zawodowe / vocational education	21	20,6
średnie / secondary education	37	36,3
wyższe / higher education	34	33,3
<b>Stan zdrowia / Health status:</b>		
bardzo zły / very bad	2	2
zły / poor	4	4
ani dobry ani zły / neither good nor bad	64	63
dobry / good	32	31
bardzo dobry / very good	0	0

## Wyniki i dyskusja

Wykazano, że na pozytywne postawy kobiet w wieku 60+ względem żywności o właściwościach prozdrowotnych wpływiał wiek oraz poziom wykształcenia (tab. 2). Wyniki badań własnych są potwierdzeniem rezultatów uzyskanych przez Piejko i Nowaka [25]. Wymienieni autorzy zauważali, że wyższy poziom wiedzy żywieniowej i płeć żeńska sprzyjają prozdrowotnym zachowaniom żywieniowym wśród słuchaczy uniwersytetów trzeciego wieku. Jędrusek-Golińska i wsp. [12] stwierdzili, że do produktów o najwyższym stopniu akceptacji według seniorów należą: kefiry/jogurty

z dodatkiem wapnia, majonez wzbogacony w kwasy *n*-3 i *n*-6 oraz makaron wzbogacony w witaminy, co znajduje odzwierciedlenie w przeprowadzonych badaniach własnych (tab. 2). Duże zainteresowanie produktami bogatymi w wapń może wynikać z wiedzy kobiet na temat prewencji osteoporozy. W badaniach własnych odnotowano, że do produktów, które nie uzyskały wysokiej akceptacji seniorek należą produkty typu light oraz margaryna obniżająca poziom cholesterolu (tab. 2). Warto podkreślić, że

Tabela 2. Ocena akceptacji i częstości spożycia wybranych grup żywności o właściwościach prozdrowotnych metodą FAS-R przez kobiety w wieku 60+

Table 2. Evaluating acceptance and frequency of consumption of selected groups of food with health-promoting properties using FAS-R method by women aged 60+

Produkty spożywcze Food products	Stwierdzenia na skali FAS-R* Statements on FAS-R scale*									
	5		4		3		2		1	
	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	16	16	36	35	18	18	14	14	18	18
Majonez z kwasami <i>n</i> -3 i <i>n</i> -6 Mayonnaise with <i>n</i> -3 and <i>n</i> -6 acids	7	7	43	42	10	10	32	31	10	10
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	11	11	12	12	3	3	48	47	28	27
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	7	7	10	10	58	57	27	26
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	36	35	21	21	5	5	23	23	17	17
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	21	21	13	13	6	6	16	16	46	45
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	53	52	27	26	9	9	3	3	10	10
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	49	48	31	30	9	9	5	5	8	8
Ser żółty light / Light yellow cheese	19	19	2	2	10	10	24	24	47	46
Serek wiejski lekki Light cottage cheese	85	83	11	11	2	2	0	0	4	4

Objaśnienia / Explanatory notes:

\*Zakres możliwych odpowiedzi / Range of possible responses: 5 – bardzo lubię tę żywność. Myślę, że jest smaczna, jadam ją / I like this food very much. I think it is tasty, I eat it; 4 – mogę zjeść tę żywność lub nie zjeść jej. Smakuje dobrze i jadam ją od czasu do czasu / I may or may not eat this food. It tastes good and I eat it from time to time; 3 – nie lubię tej żywności. Smakuje okropnie i więcej jej nie spróbuje / I don't like this food. It tastes terribly and I won't get a taste of it again; 2 – nigdy nie spróbowałam tej żywności, ale spróbowałabym, gdybym miała taką możliwość / I have never got a taste of this food, but I would if given the opportunity; 1 – nie próbowałam tej żywności i nie zamierzam jej próbować / I haven't got a taste of this food and I'm not going to.

produkty typu light mają zmniejszoną zawartość tłuszczów ogółem, co nie jest równoznaczne z obniżeniem ich wartości energetycznej. Często w tego typu produktach tłuszcz zastępowany jest cukrem, co w konsekwencji zwiększa wartość kaloryczną takiego produktu. Dodatkowo usunięcie tłuszczy z produktów mlecznych ma niekorzystny wpływ na przyswajalność witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, które w tych produktach występują [15]. Zatem rozsądne korzystanie z żywności o obniżonej kaloryczności nie stanowi problemu żywieniowego pod warunkiem równoczesnego spożywania zbilansowanej diety. Najważniejszą wskazówką dla konsumenta są etykiety zamieszczone na opakowaniach produktów spożywczych, informujące m.in. o ich składzie jakościowym i ilościowym. Należy pamiętać, że wszystkie składniki odżywcze, w tym tłuszcze, są potrzebne organizmowi do prawidłowego funkcjonowania. Według Jędrusek-Golińskiej i wsp. [11] ważną rolę przy wyborze żywności odgrywa jej smak, a zatem na niewielkie spożycie niektórych produktów prozdrowotnych może wpływać brak akceptacji ich cech sensorycznych. Zmniejszenie zawartości tłuszczy w produktach „light” wpływa na ich profil sensoryczny, co może mieć przełożenie na brak ich akceptacji przez starszych konsumentów, którzy podczas dokonywania wyborów żywieniowych częściej kierują się znajomością danych produktów bądź ich smakowitością niż ich walorami zdrowotnymi [11, 12]. Jak wskazują najnowsze badania, produkty o obniżonej zawartości tłuszczy stanowią zagrożenie zdrowotne ze względu na zwiększoną zawartość węglowodanów. Węglowodany okazały się składnikami żywności najdotkliwiej zaburzającymi gospodarkę hormonalną i generalnie homeostazę organizmu ludzkiego [35]. Wydatki żywieniowe są często elastycznym elementem budżetu gospodarstwa, co oznacza, że konsumenti rzadko z góry je planują. W rezultacie produkty prozdrowotne, takie jak owoce i warzywa są pomijane przez biedniejszych konsumentów na rzecz żywności mniej odżywczej, a bardziej energetycznej [2, 9, 30].

Analiza skali FAS-R umożliwiła poznanie preferencji respondentów dotyczących produktów funkcjonalnych. Stwierdzono, że blisko połowa (45 %) badanych starszych kobiet „nigdy nie próbowała i nie zamierza spróbować żywności typu light – tab. 2. Spośród prezentowanych produktów respondentki miały za zadanie wskazać te, które znają, ale które im nie smakują. Najniższy stopień akceptacji na podstawie stwierdzenia: „nie lubię tej żywności. Smakuje okropnie i więcej jej nie spróbuje” seniorki zadeklarowały w stosunku do margaryny obniżającej poziom cholesterolu (18 % ogółu badanych), majonezu wzbogaconego w wielonienasycone kwasy tłuszczy *n-3* i *n-6* (10 % ogółu badanych), mleka zagęszczanego wzbogaconego w magnez (10 % ogółu badanych) i sera żółtego light (10 % ogółu badanych) – tab. 2. Z danych literaturowych wynika, że zachowania żywieniowe osób starszych w Polsce cechują się popełnianiem błędów żywieniowych. Kontrolę wartości energetycznej spożywanych posiłków zadeklarowała ok. 1/4 osób starszych z Polski. Prawie połowa badanych Polaków do sma-

rowania pieczywa wybierała masło, a do smażenia potraw tylko 1/3 respondentów używała oliwy z oliwek. Zarazem zdecydowane ograniczanie cholesterolu w diecie zadeklarowała ponad 1/3 polskich seniorów [6].

Produktami o właściwościach prozdrowotnych, które uzyskały najwyższy stopień akceptacji wśród kobiet w wieku 60+ przez wskazanie dwu odpowiedzi: „bardzo lubię tę żywność. Myślę, że jest smaczna” i „mogę zjeść tę żywność lub jej nie zjeść. Smakuje dobrze i jadam ją od czasu do czasu” był serek wiejski lekki (83 % ogółu badanych), jogurt o zawartości tłuszcza 0 % (52 % ogółu badanych), mleko odtłuszczone 0,5 % lub 1,5 % (48 % ogółu badanych), majonez z dodatkiem kwasów *n*-3 i *n*-6 (42 % ogółu badanych), kefir/jogurt wzbogacony w wapń (35 % ogółu badanych) i margaryna obniżająca poziom cholesterolu (35 % ogółu badanych) – tab. 2. Pomimo tego, że wraz z wiekiem zmniejsza się synteza laktazy, co może powodować nietolerancję cukru mlecznego i dokuczliwe dolegliwości [13], to jednak seniorki zadeklarowały pozytywne postawy względem produktów mlecznych, co jest zjawiskiem bardzo korzystnym w tej grupie wiekowej, szczególnie w przypadku kobiet. Drywień i wsp. [4] stwierdzili, że kobiety w wieku 19 - 90 lat spożywały w największych ilościach jogurty i kefiry naturalne (ok. 34 % ogółu produktów fermentowanych) i smakowe (ok. 25 %). Według obserwacji Jędrusek-Golińskiej i wsp. [12] w grupie osób po 65. roku życia do najczęściej kupowanych produktów prozdrowotnych należała nabiał wzbogacany w wapń. Osoby starsze częściej sięgają po zdrową żywność niż osoby młode [3]. Wiek seniorek miał wpływ na stopień akceptacji prezentowanej w badaniu żywności o właściwościach prozdrowotnych (tab. 3). Produktami, które uzyskały najwyższy stopień akceptacji w grupie kobiet w wieku 60 - 74 lata i w wieku 75 - 90 lat były: serek wiejski lekki (odpowiednio: 45 i 38 %), jogurt typu 0 % tłuszcza (odpowiednio: 35 i 22 %), mleko odtłuszczone 0,5 % lub 1,5 % (odpowiednio: 32 i 23 %), majonez z kwasami *n*-3 i *n*-6 (odpowiednio: 42 i 30 %), kefiry/jogurty z dodatkiem wapnia (31 % kobiet w wieku 60 - 74 lat), margaryna obniżająca poziom cholesterolu (23 % kobiet w wieku 75 - 90 lat) – tab. 3. Kobiety w wieku 60+, które ocenily swój stan zdrowia jako „ani dobry ani zły” zadeklarowały wysoki poziom akceptacji takich produktów, jak: serek wiejski lekki (51 %), majonez z kwasami *n*-3 i *n*-6 (32 %), mleko odtłuszczone 0,5 % lub 1,5 % (28 %) oraz jogurt o zawartości tłuszcza 0 % (26 %) – tab. 4.

Odnosząc się do nieznanej dla siebie żywności respondentki mogły również wyrazić chęć jej spróbowania, zaznaczając odpowiedź: „Nigdy nie spróbowałam tej żywności, ale spróbowałabym, gdybym miała taką możliwość”. W badanej grupie aż 57 % kobiet zadeklarowało chęć spróbowania mleka zagęszczonego wzbogaconego w magnez, a 47 % – makaronu wzbogaconego w witaminy i/lub mikro- i makroelementy (tab. 2).

Tabela 3. Ocena akceptacji i częstości spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+ z uwzględnieniem wieku respondentek

Table 3. Evaluating acceptance and frequency of consumption of food with health-promoting properties by women aged 60+ with reference to age of respondents

Produkty spożywcze Food produkts	Stwierdzenia na skali FAS-R Statements on FAS-R scale									
	5		4		3		2		1	
	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
Wiek / Age: 60 - 74 lata / years; n = 55										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	9	9	13	13	8	8	13	13	12	12
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	2	2	12	12	6	6	28	27	7	7
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	4	4	8	8	1	1	26	25	16	16
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	1	1	6	6	32	31	16	16
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	32	31	7	7	3	3	6	6	7	7
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	18	18	8	8	2	2	8	8	19	19
Jogurt typu 0 % tłuszczu Yoghurt with 0 % of total fat	36	35	5	5	6	6	3	3	5	5
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczu / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	33	32	8	8	7	7	4	4	3	3
Ser żółty light / Light yellow cheese	11	11	1	1	9	9	14	14	20	20
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	46	45	4	4	2	2	0	0	3	3
Wiek / Age: 75 - 90 lat / years; n = 47										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	7	7	23	23	10	10	1	1	6	6
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	5	5	31	30	4	4	4	4	3	3
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	7	7	4	4	2	2	22	22	12	12
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	6	6	4	4	26	25	11	11
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	4	4	14	14	2	2	17	17	10	10
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	3	3	5	5	4	4	8	8	27	26

Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	17	17	22	22	3	3	0	0	5	5
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	16	16	23	23	2	2	1	1	5	5
Ser żółty light / Light yellow cheese	8	8	1	1	1	1	10	10	27	26
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	39	38	7	7	0	0	0	0	1	1

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

Tabela 4. Ocena akceptacji i częstości spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+ z uwzględnieniem samooceny stanu zdrowia respondentek

Table 4. Evaluating acceptance and frequency of consumption of food with health-promoting properties by women aged 60+ with reference to self-assessed health status of respondents

Produkty spożywcze Food produkts	Stwierdzenia na skali FAS-R Statements on FAS-R scale									
	5		4		3		2		1	
	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
Stan zdrowia ani dobry ani zły / Neither good nor bad health status; n = 64										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	9	9	26	25	12	12	7	7	10	10
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	5	5	33	32	5	5	16	16	5	5
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	6	6	4	4	2	2	31	30	21	21
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	5	5	4	4	35	34	20	20
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	18	18	12	12	3	3	18	18	13	13
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	10	10	6	6	4	4	8	8	36	35
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	21	21	25	25	8	8	2	2	8	8
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	23	23	29	28	5	5	2	2	5	5
Ser żółty light / Light yellow cheese	6	6	1	1	8	8	14	14	35	34
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	52	51	10	10	1	1	0	0	1	1
Stan zdrowia dobry / Good health status; n = 32										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	7	7	9	9	5	5	4	4	7	7

Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	2	2	10	10	3	3	13	13	4	4
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	5	5	6	6	1	1	15	15	5	5
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	2	2	5	5	19	19	6	6
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	16	16	6	6	2	2	5	5	3	3
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	11	11	6	6	1	1	5	5	9	9
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	27	26	1	1	1	1	1	1	2	2
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	23	23	2	2	3	3	1	1	3	3
Ser żółty light / Light yellow cheese	13	13	1	1	1	1	7	7	10	10
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	29	28	1	1	0	0	0	0	2	2
Stan zdrowia zły i bardzo zły / Poor and very bad health status; n = 6										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	0	0	1	1	1	1	3	3	1	1
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	0	0	0	0	2	2	3	3	1	1
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	0	0	1	1	4	4	1	1
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	3	3	2	2	0	0	0	0	1	1
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	0	0	1	1	1	1	3	3	1	1
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	5	5	1	1	0	0	0	0	0	0
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	3	3	0	0	1	1	2	2	0	0
Ser żółty light / Light yellow cheese	0	0	0	0	1	1	3	3	2	2
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	4	4	0	0	1	1	0	0	1	1

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

Młodsza grupa respondentek w wieku 60 - 74 lata była bardziej skłonna do próbowania nieznanej żywności funkcjonalnej, co może wynikać z ciekawości i chęci

zmiany nawyków żywieniowych bądź poprawy stanu zdrowia. Kobiety w wieku 60 - 74 lata (odpowiednio: 31 i 27 %) oraz w wieku 75 - 90 lat (po 25 %) chętnie spróbowałyby mleka zagęszczanego wzbogaconego w magnez i makaronu wzbogaconego w witaminy i/lub mikro- i makroelementy (tab. 3).

Respondentki w wieku 75 - 90 lat były w znacznym stopniu przyzwyczajone do spożywania żywności, którą знаły lub która im smakowała. Ich preferencje żywieniowe miały przełożenie na ich zachowania żywieniowe charakteryzujące się niechęcią do wprowadzenia do codziennego jadłospisu nowych, nieznanych produktów o właściwościach prozdrowotnych (tab. 3). W analizie wyników z uwzględnieniem kryterium wieku badanej grupy respondentek potwierdzono dane uzyskane dla badanej grupy ogółem (tab. 2) w zakresie nieznajomości i niechęci do próbowania przez seniorki żywności typu ligth, w tym sera żółtego light (odpowiednio: 19 i 20 % kobiet w wieku 60 - 74 lata oraz po 26 % kobiet w wieku 75 - 90 lat) – tab. 3. Kobiety z wykształceniem wyższym stanowiły najwyższy odsetek postaw pozytywnych i skłonność do próbowania nowych produktów o właściwościach prozdrowotnych (tab. 5). Wykazano, że odpowiednio [%]: 21, 19 i 18 respondentek legitymujących się wykształceniem podstawowym/zawodowym, średnim i wyższym (tab. 5) oraz odpowiednio [%]: 21, 19 i 18 respondentek o „ani dobrym ani złym stanie zdrowia”, „o dobrym stanie zdrowia” oraz „o złym i bardzo złym stanie zdrowia” (tab. 4), chętnie spróbowałyby mleka zagęszczanego wzbogaconego w magnez. Ponadto 18 % respondentek z wykształceniem podstawowym/zawodowym i wyższym, 12 % respondentek z wykształceniem średnim (tab. 5) oraz 30 % respondentek o „ani dobrym ani złym stanie zdrowia” (tab. 4) spróbowałyby makaronu wzbogaconego w witaminy i/lub mikro- i makroelementy. Stwierdzono, że respondentki legitymujące się wykształceniem podstawowym/zawodowym spożywały głównie produkty, które знаły (tab. 5).

Prawidłowe zachowania żywieniowe mają kluczowe znaczenie w utrzymaniu zdrowia, tym samym decydują o długości i jakości życia człowieka. Monitorowanie żywienia stanowi podstawę oceny ryzyka wystąpienia niedoborów lub nadmiarów pokarmowych u osób w starszym wieku oraz wynikających stąd skutków zdrowotnych [28]. Konieczne zatem wydaje się podejmowanie wszelkich działań edukacyjnych skierowanych do osób starszych. Odpowiednia wiedza związana z odżywianiem i pozytywne postawy wobec żywienia mogą silnie i korzystnie wpływać na stan zdrowia i jakość życia osób starszych [10].

Zachowania żywieniowe konsumentów, w tym osób starszych, pozostają zróżnicowane ze względu na płeć, wiek, cechy osobowości, wskaźniki usytuowania społecznego i materialnego oraz uwarunkowania regionalne i kulturowe [1, 14, 24, 29, 31]. Osoby starsze stanowią grupę podwyższonego ryzyka niedoborów różnych składników pokarmowych [2, 17]. Wykazano także, że odpowiednia podaż witamin antyoksydacyjnych może opóźniać osłabianie funkcji poznawczych u osób starszych [34]. Z badań

Tabela 5. Ocena akceptacji i częstości spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+ z uwzględnieniem poziomu wykształcenia respondentek

Table 5. Evaluating acceptance and frequency of consumption of food with health-promoting properties by women aged 60+ with reference to education level of respondents

Produkty spożywcze Food produkts	Stwierdzenia na skali FAS-R Statements on FAS-R scale									
	5		4		3		2		1	
	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
Wykształcenie podstawowe/zawodowe / Primary/vocational education; n = 31										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	2	2	13	13	4	4	7	7	5	5
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	0	0	13	13	4	4	11	11	3	5
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	0	0	1	1	1	1	18	18	11	11
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	1	1	3	3	21	21	6	6
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	13	13	5	5	1	1	8	8	4	4
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	2	2	2	2	5	5	5	5	17	17
Jogurt typu 0 % tłuszczu Yoghurt with 0 % of total fat	13	13	13	13	2	2	1	1	2	2
Mleko odłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczu / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	14	14	14	14	1	1	1	1	1	1
Ser żółty light / Light yellow cheese	1	1	0	0	7	7	5	5	18	18
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	25	25	5	5	0	0	0	0	1	1
Wykształcenie średnie / Secondary education; n = 37										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	7	7	13	13	6	6	5	5	6	6
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	5	5	15	15	3	3	11	11	3	3
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	6	6	7	7	2	2	12	12	10	10
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	2	2	5	5	19	19	11	11
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	13	13	9	9	1	1	9	9	5	5

Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	8	8	6	6	0	0	4	4	19	19
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	18	18	11	11	3	3	1	1	4	4
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	19	19	11	11	1	1	3	3	3	3
Ser żółty light / Light yellow cheese	7	7	2	2	3	3	7	7	18	18
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	32	31	2	2	2	2	0	0	1	1
Wykształcenie wyższe / Higher education; n = 34										
Margaryna obniżająca poziom cholesterolu Cholesterol reducing margarine	7	7	10	10	8	<u>8</u>	2	2	7	7
Majonez z kwasami n-3 i n-6 Mayonnaise with n-3 and n-6 acids	2	2	15	15	3	3	10	10	4	4
Makaron wzbogacony w witaminy/mikro- i makroelementy / Pasta enriched with vitamins/micro- and macroelements	5	5	4	4	0	0	18	18	7	7
Mleko zagęszczane wzbogacone w magnez Condensed milk enriched with magnesium	0	0	4	4	2	2	18	18	10	10
Kefiry/jogurty wzbogacone w wapń Kefirs/yoghurts enriched with calcium	10	10	7	7	3	3	6		8	8
Produkty typu light o zmniejszonej wartości energetycznej / Light products with reduced energy value	11	11	5	5	1	1	7	7	10	10
Jogurt typu 0 % tłuszczy Yoghurt with 0 % of total fat	22	22	3	3	4	4	1	1	4	4
Mleko odtłuszczone – 0,5 lub 1,5 % tłuszczy / Skimmed milk – 0.5 % or 1.5 % of total fat	16	16	6	6	7	<u>7</u>	1	1	4	4
Ser żółty light / Light yellow cheese	11	11	0	0	0	0	12	12	11	11
Serek wiejski lekki / Light cottage cheese	28	27	4	4	0	0	0	0	2	2

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

własnych wynika, że wśród respondentek w wieku 60+ przeważała postawa ambiwalentna oraz pozytywna względem żywności prozdrowotnej. Z kolei w badaniach nad zachowaniami sprzyjającymi zdrowiu osób starszych odnotowano, że seniorzy uzyskali wysoki poziom zachowań zdrowotnych [20] oraz że wraz z wiekiem respondentów obserwowano tendencję wzrostu zainteresowania żywnością funkcjonalną [33]. Niski poziom neofobii żywieniowej kobiet po 60. roku życia i ich pozytywne postawy względem żywności nowej i nieznanej o wysokiej wartości odżywczej są zjawiskiem korzystnym, mogącym wpływać pozytywnie na upowszechnienie prozdrowotnego sposobu żywienia w grupie osób starszych, zarówno kobiet, jak i mężczyzn [26, 27]. Konieczna jest kontynuacja badań celem monitorowania zmian zachodzących w zacho-

waniach żywieniowych i zdrowotnych seniorów. Istnieje również potrzeba prowadzenia badań nad interakcjami pomiędzy zachowaniami żywieniowymi a innymi zachowaniami związanymi ze stylem życia w celu zapobiegania zaburzeniom wieloetiologicalnym w starszym wieku [19].

### **Wnioski**

1. Poziom akceptacji innowacji wprowadzanych w produktach żywnościovych zależał od cech socjodemograficznych kobiet powyżej 60. roku życia, takich jak: wiek i poziom wykształcenia. Czynniki te determinowały postawy pozytywne i wzrost częstości spożycia żywności o właściwościach prozdrowotnych.
2. Respondentki w wieku 60 - 74 lata częściej wykazywały wyższy stopień akceptacji produktów prozdrowotnych niż kobiety w wieku 75 - 90 lat. Ponadto kobiety legitymujące się wyższym wykształceniem częściej niż kobiety z wykształceniem średnim i podstawowym/zawodowym deklarowały postawy pozytywne względem żywności o właściwościach prozdrowotnych oraz chęć próbowania nowej, nieznanej żywności.
3. Stan zdrowia respondentek nie wpływał w znacznym stopniu na ich postawy dotyczące spożywania żywności o właściwościach prozdrowotnych. Seniorki zarówno z „dobrym”, jak i „ani dobrym ani złym” stanem zdrowia wykazywały postawy ambiwalentne w stosunku do żywności o właściwościach prozdrowotnych. Niezależnie od stanu zdrowia seniorki wykazywały niechęć do spożywania żywności typu light.
4. Produkty o właściwościach prozdrowotnych o najwyższy stopniu akceptacji przez respondentki w wieku 60+ to: majonez wzbogacony w kwasy  $n-3$  i  $n-6$ , kefiry/jogurty wzbogacone w wapń i margaryna obniżająca poziom cholesterolu. Ponadto seniorki biorące udział w badaniach (wysoki odsetek) spożywały produkty o obniżonej zawartości tłuszcza, takie jak: serek wiejski lekki, jogurt typu 0 % tłuszcza, mleko odtłuszczone 0,5 lub 1,5 %.
5. Produktami nowymi, nieznanymi dla seniorek, których respondentki chętnie by spróbowaly, były: mleko zagęszczone wzbogacone w magnez oraz makaron wzbogacony w witaminy i/lub mikro- i makroelementy.
6. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność podjęcia wśród seniorów działań edukacyjnych na temat korzyści i zagrożeń wynikających ze spożywania żywności funkcjonalnej.

*Praca została sfinansowana ze środków WZNJ/2021/PZ/05.*

## Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E., Jeżewska-Zychowicz M.: Wpływ czynników środowiskowych na wybór i spożycie żywności. *Handel Wewnętrzny*, 2015, 2 (355), 5-18.
- [2] Baker H.: Nutrition in the elderly: An overview. *Geriatrics*, 2007, 62 (7), 28-31.
- [3] Cheah Y.K., Moy F.M., Loh D.A.: Socio-demographic and lifestyle factors associated with nutrition label use among Malaysian adults. *Brit. Food J.*, 2015, 117(11), 2777-2787.
- [4] Drywień M., Hamułka J., Górnicka M., Wawrzyniak A., Frąckiewicz J., Woźniak A., Ciecielska A.: Spożycie produktów fermentowanych. Badania ankietowe kobiet. *Przem. Spoż.*, 2018, 72 (2), 36-39.
- [5] Frank R.A., van der Klaauw N.J.: The contribution of chemosensory factors to individual differences in reported food preferences. *Appetite*, 1994, 22 (2), 101-123.
- [6] Gacek M.: Zachowania żywieniowe grupy osób starszych zamieszkujących w Polsce i Niemczech. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2008, 89 (3), 401-406.
- [7] Gedrich K.: Determinants of nutritional behaviour: A multitude of levers for successful intervention? *Appetite*, 2003, 41, 231-238.
- [8] Gruszka K., Kubicka K., Jonak W., Sobiech K.A., Steciwko A.: Preferred and undesirable products in the dietary habits of women. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2014, 23 (1), 111-116.
- [9] Inglis V., Ball K., Crawford D.: Does modifying the household food budget predict changes in the healthfulness of purchasing choices among low- and high-income women? *Appetite*, 2009, 52 (2), 273-279.
- [10] Jeruszka-Bielak M., Kollajtis-Dolowy A., Santoro A., Ostan R., Berendsen A.A.M., Jennings A., Meunier N., Marseglia A., Caumon E., Gillings R., de Groot L.C.P.G.M., Franceschi C., Hieke S., Pietruszka B.: Are nutrition-related knowledge and attitudes reflected in lifestyle and health among elderly people? A study across five European countries. *Front Physiol.*, 2018, 9, #994.
- [11] Jędrusek-Golińska A., Szymandera-Buszka K., Waszkowiak K., Kmiecik D., Kobus-Cisowska J.: Wpływ subiektywnej oceny statusu ekonomicznego ludzi starszych na ich nastawienia do żywności funkcjonalnej. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2017, 98 (3), 271-275.
- [12] Jędrusek-Golińska A., Szymandera-Buszka K., Waszkowiak K., Pieciewicz M.: Postrzeganie żywności prozdrowotnej przez osoby starsze w świetle badań. *Handel Wewnętrzny*, 2018, 4 (375), 145-155.
- [13] Kalabatiene D., Varvuolyte S., Alekna V.: Investigation of hypolactasia in the elderly. *Gerodontology*, 2006, 7, 136-142.
- [14] Kostakis I.: The determinants if households' food consumption in Greece. *Int. J. Food Agric. Econ.*, 2014, 2 (2), 17-28.
- [15] Kudełka W., Jachna D.: Charakterystyka żywności o obniżonej wartości energetycznej. *Zesz. Nauk. UE w Krakowie*, 2009, 834, 69-96.
- [16] Kurpas D., Mroczek B., Bielska D.: The correlation between quality of life, acceptance of illness and health behaviors of advanced age patients. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 2013, 56 (3), 448-456.
- [17] Liedberg B., Stoltze K., Norlen P.: Inadequate dietary habits and mastication in elderly men. *Gerodontology*, 2007, 24 (1), 41-46.
- [18] Łobaza D., Kudełka W.: Charakterystyka żywności funkcjonalnej. *Zesz. Nauk. AE w Krakowie*, 2007, 743, 91-120.
- [19] Marseglia A., Xu W., Fratiglioni L., Fabbri C., Berendsen A.A.M., Bialecka-Debek A., Jennings A., Gillings R., Meunier N., Caumon E., Fairweather-Tait S., Pietruszka B., De Groot L.C.P.G.M., Santoro A., Franceschi C.: Effect of the NU-AGE diet on cognitive functioning in older adults: A randomized controlled trial. *Front. Physiol.*, 2018, 9, #349.
- [20] Muszalik M., Kędziora-Kornatowska K.: The analysis healthy behaviour among elderly people in Juczyński's Inventory of Healthy Behaviour. *Adv. Med. Sci.*, 2007, 52, 105-107.

- [21] Niewczas M.: Kryteria wyboru żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 6 (91), 204-219.
- [22] Olejniczak M.: Ryzyko konsumenckie w procesie zakupu żywności funkcjonalnej. *Zesz. Nauk. Wyższej Szkoły Bankowej we Wrocławiu*, 2015, 15 (3), 417-424.
- [23] Olędzka R.: Nutraceutycyki, żywność funkcjonalna – rola i bezpieczeństwo stosowania. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007, 40 (1), 1-8.
- [24] Peltzer K.: Health behavior in black South African university students. *S. Afr. J. Psych.*, 2000, 30 (4), 46-50.
- [25] Piejko L.J., Nowak Z.: Jakość diety i wybrane zachowania żywieniowe słuchaczy uniwersytetów trzeciego wieku w województwie śląskim. *Med. Og. Nauk. Zdr.*, 2018, 24 (1), 49-53.
- [26] Platta A.: Postawy i zachowania żywieniowe wybranej grupy osób starszych względem żywności nowej i nieznanej oraz produktów prozdrowotnych. *Intercathedra*, 2019, 3 (40), 261-269.
- [27] Platta A., Puksza T.: Elderly people's perception of new and convenience foods with health benefits. *Rocznik Nauk. Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2019, XXI (2), 235-245.
- [28] Rivlin R.S.: Keeping the young-elderly health: Is it too late to improve our health through nutrition? *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007, 86, 1572-1576.
- [29] Roos E., Lohelma E., Virtanen M., Prattala R., Pietinen P.: Gender, socioeconomic status and family status as determinants of food behaviour. *Soc. Sci. Med.*, 1998, 46 (12), 1519-1529.
- [30] Ruggeri A., Arvola A., Samoggia A., Hendrixson V.: Food behaviours of Italian consumers at risk of poverty. *Brit. Food J.*, 2015, 117 (11), 2831-2848.
- [31] Rurik I.: Nutritional differences between elderly men and women. Primary care evaluation in Hungary. *Ann. Nutr. Metab.*, 2006, 50 (1), 45-50.
- [32] Stanner S.: Diet and lifestyle measures to protect the ageing heart. *Br. J. Community*, 2009, 14 (5), 210-212.
- [33] Tańska M., Babicz-Zielińska E., Przysławski J.: Postawy osób starszych wobec zdrowia i żywności o działaniu prozdrowotnym. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, 94 (4), 915-918.
- [34] Wengreen H.J., Munger R.C., Corcoran C.D.: Antioxidant intake and cognitive function of elderly men and women: The Cache County study. *J. Nutr. Health Aging.*, 2007, 11 (3), 230-237.
- [35] World Health Organization: International Programme on Chemical Safety – Global assessment on the state of the science of endocrine disruptors. WHO, Geneva 2002.

#### EVALUATING ACCEPTANCE OF FOOD WITH HEALTH-PROMOTING PROPERTIES BY WOMEN AGED 60+

##### S u m m a r y

Food market counts among some of the most innovative segments of economy both in Poland and worldwide. The production of food of a higher quality, adequate nutritional value and pro-health properties is a specific imperative for producers.

The objective of the research study was to evaluate the degree of acceptance and frequency of consumption of food with health-promoting properties and a reduced fat content by a group of women over 60 years of age ( $n = 102$ ). The research study was carried out in 2020 using a Food Attitude Survey (FAS-R) method. With the use of FAS-R scale, evaluated was the willingness of the women surveyed to accept food products they had never eaten before. By establishing the degree of this acceptance on the scale, a list of new products for the respondents was determined. The level of acceptance of the innovative food products depended on the socio-demographic characteristics of consumers (women above 60 years of age),

such as age and level of education. Those factors determined the positive attitudes and the increase in the frequency of consumption of health-promoting food by women aged 60+. The health condition of female respondents did not significantly affect the positive attitudes towards consuming food with health-promoting properties. The persons with both the “good” and “neither good nor bad” health status showed the ambivalent attitudes towards the food with pro-health properties. When choosing food, the group of elderly women surveyed mainly paid attention to its taste.

**Key words:** pro-healthy food, attitudes, consumer, elderly women (60+), questionnaire survey 

MARIA ŚMIECHOWSKA, MILLENA RUSZKOWSKA

## EFFECT OF STORAGE ON THE QUALITY PARAMETERS OF SEA SALT

### Summary

Table salt (sodium chloride) is one of the most commonly occurring compounds on Earth. Sea salt is produced by the evaporation of sea water. Because of its origin, this type of salt is distinguished by a natural content of iodine and other valuable minerals (lithium, magnesium, zinc and selenium). Sea salt has a more distinctive taste compared to table salt, so that smaller amounts thereof can be used and, owing to its relatively low sodium content, it is considered to be the healthiest type of salt. The natural sea salt crystals impede the packaging and storage processes and also its dissolution during the technological process or during the food preparation by consumers in domestic conditions. Thus, the objective of the research study was to assess the effect of storage on the quality parameters of crystalline (commercial) and finely ground sea salt. The research material consisted of 6 sea salt samples, which were assessed in a crystalline (CH) and ground (RH) forms immediately after purchase and after 12 months of storage – crystalline (CP) and ground (RP) sea salt samples. The quality assessment of the sea salt samples was made on the basis of the following: water content and water activity, colour assessment, determination of loose (bulk) and tapped density, and static and kinetic angle of repose measured. On the basis of the analyses performed, statistically significant differences were found between the crystalline and ground salt samples taken from the purchased and stored packets; those differences were found in the L\* colour parameter (brightness), the value of the Hausner ratio, and the values of the static and kinetic angle of repose. The performed quality assessment of the stored ground sea salt samples might constitute potential recommendations for both the consumers and the food technologists in various branches of the food industry.

**Key words:** sea salt, water content, water activity, colour, loose (bulk) density, tapped density, static angle of repose, kinetic angle of repose

### Introduction

Salt is the most frequently used ingredient in food technology and during home cooking. Consumers pay more and more attention to health properties of the salts used. For this reason, it is suggested to replace traditional table salt by, inter alia, sea salt,

---

*Prof. dr hab. M. Śmiechowska, dr hab. inż. M. Ruszkowska, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia  
Kontakt: m.smiechowska@wznj.ung.edu.pl*

which is regarded to be a source of additional health promoting ingredients because of the high content of valuable micronutrients. Sea salt available on the Polish market has a form of larger crystals and is sold in unit packets. Halite in the form of crystals is undesirable in food production for it makes packing and storing salt difficult, as does its dissolution in food products. Salt in the form of crystals should be crushed prior to being used in technological process or during the preparation of food. Thus, consumers have to grind sea salt in order to use it at home.

During the analysis of the issue, it was found that there are only few publications in the reference literature on one of the basic food products, which is salt, including sea salt. Sea salt is an important raw material in food technology and it plays an extremely important role in gastronomy and cuisine. In the reference literature there are no studies on the quality of sea salt nor are those on the effect of storage on the quality parameters of sea salt in crystalline (commercial) and ground forms. From the point of view of managing the transport and storage of sea salt and of using it in food production plants and at home, it is important to have knowledge of the quality parameters of sea salt based on its selected physicochemical properties. A particularly important role during the transport of products on a technological line play the fluidic properties of foodstuffs, estimated on the basis of parameters such as bulk density and static and kinetic angle of repose [11]. Bulk density is a parameter to determine the packing fraction of packets or devices, the efficiency of transport devices; on the basis of bulk density it is possible to estimate the magnitude of frictional forces acting on devices and tanks [11, 13]. On the other hand, the static and kinetic angles of repose determine the size of storage area, storage capacity and silo unloading speed [7, 13].

Therefore, the objective of the research study was to assess the effect of storage on the quality parameters of both the crystalline (commercial) sea salt and the sea salt ground under the laboratory conditions.

## **Material and methods**

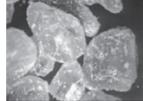
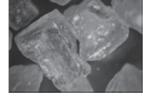
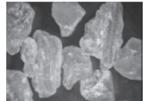
The research material consisted of 6 sea salts purchased in various places in Poland and abroad. Except for products from the Canary Islands and Denmark, all other salts were purchased in stationary stores. General profile of the products analysed is presented in Tab. 1. There was used information given on the packets and on the manufacturers' websites. Also, there are presented the microscopic images of the tested salts I - VI. Diagram of the research carried out is presented in Fig. 1.

In the research study, there were assessed the samples of: crystalline sea salt taken directly from the packets (CH), salt subjected to grinding (RH), and salt stored in the original packets for a period of 12 months. The salt samples were stored in a room where normal environmental conditions prevailed, i.e. the temperature was  $20 \pm 2$  °C and the humidity  $60 \pm 5$  %. Only the commercial product, i.e. crystalline salt, was

stored and ground after the storage period. The stored products were also examined, i.e. the salt from the packets (CP) and the salt subjected to grinding (RP). Salt was ground with a WŻ-1 type laboratory grinder for 6 s.

Table 1. Profile of material studied

Tabela 1. Charakterystyka badanego materiału

Salt code Kod soli	Country of origin Kraj pochodzenia	Granularity Granulacja	Price/kg Cena/kg [PLN]	Composition Skład
I	Croatia Chorwacja		6.92	Sodium chloride (> 98 %), calcium (< 0.20 %), magnesium (0.19 %), sodium iodide (< 5 mg/kg), naturally occurring iodide, E536 (anti-caking agent) Chlorek sodu (> 98 %), wapń (< 0,20 %), magnez (0,19 %), jodek sodu (< 5 mg/kg), jodek naturalnie występujący, E536 (środek przeciwbrylający)
II	Greece Grecja		3.87	Sodium chloride (99.5 %), 3.9 ± 1.3 mg/kg potassium iodate (enriching agent), E536 (anti-caking agent), iodine (23100 µg/kg) / Chlorek sodu (99,5 %), 3.9 ± 1.3 mg/kg jodanu potasu (substancja wz bogacająca), E536 (środek przeciwbrylający), jod (23100 µg/kg)
III	Greece / Grecja (Mediterranean Sea) (Morze Śródziemne)		8.57	Unrefined, 100 % of coarse-grained sea salt, no anti-caking agents contained therein / Nierafinowana, 100 % soli morskiej grubo mielonej, nie zawiera substancji przeciwbrylających
IV	Canary Islands Wyspy Kanaryjskie (Fuertaventura)		21	Natural, no additives Naturalna, bez dodatków
V	Origin unknown Pochodzenie nieznane		7.90	Iodized, potassium iodate Jodowana, jodan potasu (26.0 ÷ 33.7 mg/kg salt / soli)
VI	Denmark Dania		172.52	Sodium chloride (95 %), other minerals (5 %), naturally occurring iodine Chlorek sodu (95 %), inne związki mineralne (5 %), naturalnie występujący jod

Source / Źródło: the authors' own study based on information placed on unit packets / opracowanie własne na podstawie informacji zawartych na opakowaniach jednostkowych.

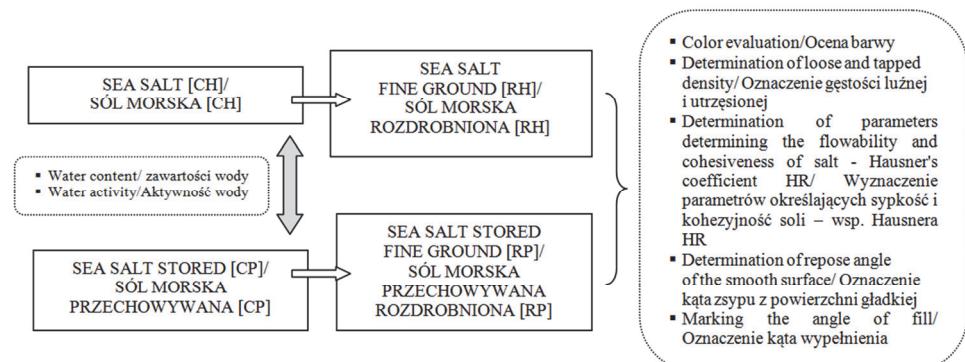


Fig. 1. Research flow chart

Rys. 1. Schemat przebiegu badań

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

The water content in the samples was determined by thermal drying at a temperature of 403.15 K (130 °C) under the ambient pressure for 5 h [14]. There were analysed the samples of crystalline salt from the packets (CH) and those of crystalline salt after storage (CP). The water activity was determined in an AquaLab 4TE apparatus, AS4 2.14.0 2017 version (Decagon Devices, Inc., USA), with an accuracy of  $\pm 0.0003$  at a temperature of 293 K (20 °C).

The instrumental determination of the product colours was performed using a Konica-Minolta CR 400 colorimeter (Konica Minolta, Japan) for the standard 2° observer and D65 illuminate. The colour measurements were made in a CIE LAB colour space, where L\* determines the brightness of raw materials and extrudates (on a scale of 0 ÷ 100), a\* colour index is the balance of green (-100) and red (+100) and b\* colour index is the balance of blue (-100) and yellow (+100).

The characterisation of the selected quality parameters was carried out on the basis of determining the bulk and tapped density, which are the basic discriminants necessary to determine the Hausner ratio and the Carr index [2, 8, 9].

The evaluation of the products included the determination of the static angle of repose [6, 9] and of the kinetic angle of repose by a tilted surface method using a constant volume of the product [3, 4].

The results obtained are presented as a mean value of three replications. The statistical calculations were performed using PQStat 1.8.0.476 and Statistica 12 packages. In order to determine the differences between the salt groups examined, an analysis of variance (ANOVA) was used. To check the significance of differences between individual groups, a Tukey's post-hoc test with the significance level of  $p \leq 0.05$  was applied. To evaluate the differences between the means, a Student's t-test was used and a multivariate cluster analysis was performed.

## Results and discussion

Water content and activity are the basic parameters to indicate the directions of chemical, physical and microbiological changes to shape the quality and stability of food products. The water contained in the salt is mostly structural water, which is inaccessible to microorganisms and remains in a state of chemical inactivity. The low value of water activity of salt, including sea salt, explains its use as a food preservative.

Based on the assessment of the initial water content in sea salts taken directly from the packets (CH), it was found that salt IV from the saltworks in Fuerteventura (Salinas del Carmen) was characterised by the highest water content and a high water activity. Probably the high values of the parameters assessed could have resulted from the composition of sea salt (Tab. 2). The packet of sea salt from Fuerteventura lacks the composition of the product; the proportion of sodium chloride is not stated. With a lower content of sodium chloride and the co-occurrence of calcium and magnesium salts, the product can quickly become hygroscopic until achieving the flow effect, which explains an increase in the water content in the salt stored for a period of 12 months. Sea salt VI obtained from saltworks in Denmark was also characterised by a high content of water. When assessing the water content in the stored products (CP), it was found that, except for salts IV and V, the water content decreased in the remaining products after the storage process. Thus, the obtained values of changed water content indicated adequate barrier properties of the packet packaging.

Table 2. Water content in and water activity of crystalline sea salt (not stored and stored)

Tabela 2. Zawartość i aktywność wody soli morskiej krystalicznej (nieprzechowywanej i przechowywanej)

Salt code Kod soli	Crystalline sea salt / Sól morska krystaliczna			
	Water content / Zawartość wody [g/100 g d.m. / s.m.]		Water activity Aktywność wody [-]	
	CH	CP	CH	CP
I	0.5204	0.4739	0.6432	0.3700
II	0.4165	0.0756	0.3980	0.3145
III	0.0677	0.0366	0.3799	0.3221
IV	3.7801	4.7373	0.5112	0.6254
V	0.0182	0.0238	0.3477	0.3782
VI	2.2304	1.9388	0.6260	0.3449

Explanatory notes / Objяснienia:

CH – sea salt taken directly from the packet, not stored / sól morska pobrana bezpośrednio z opakowania, nieprzechowywana; CP – seal salt stored / sól morska przechowywana.

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

The water activity of the sea salts II, III and V taken directly from the packets was characterised by a similar low level and ranged between  $0.3477 \div 0.3980$  (Tab. 2). On the other hand, the samples of sea salts I, IV and VI from the saltworks in Croatia, Fuerteventura and Denmark, respectively, were characterised by water activity values between  $0.5112 \div 0.6432$ .

On the basis of the instrumental colour measurement, it was found that the brightness of the tested sea salts taken directly from the packets (CH) and expressed by L\* parameter was clearly in the range between  $63.68 \div 84.14$  (Tab. 3). The colour of sea salt II (CH) was the closest to the white colour, whereas sea salt I (CH) had the most pronounced gray colour. The brightness of the stored sea salts (CP) changed during storage. The sea salts I and VI showed an increase in the brightness, while a decrease in the L\* parameter was found in other products assessed (Tab. 3). It was also found that the grinding process increased the L\* brightness parameter of the assessed the sea salts I - VI.

Table 3. Colour assessment of crystalline and ground sea salt (not stored and stored)

Tabela 3. Ocena barwy soli morskiej krystalicznej i rozdrobnionej (nieprzechowywanej i przechowywanej)

Salt code Kod soli	Sea salt / Sól morska											
	Crystalline / Krystaliczna						Ground / Rozdrobniona					
	CH			CP			RH			RP		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
I	63.68	-0.17	1.06	74.60	-0.32	0.95	93.75	-0.19	1.31	94.51	-0.16	1.65
II	84.14	-0.23	1.66	78.18	-0.07	0.23	95.37	-0.22	1.55	94.53	-0.13	1.12
III	76.22	-0.11	0.19	71.33	-0.11	0.43	95.93	-0.16	0.57	95.10	-0.16	0.77
IV	69.90	-0.06	0.68	68.26	-0.05	0.78	93.12	-0.15	1.23	95.44	-0.14	1.34
V	77.90	-0.15	0.81	77.52	-0.20	0.69	96.85	-0.14	0.72	95.63	-0.15	1.39
VI	77.68	-0.32	1.08	78.82	-0.40	1.78	92.56	-0.30	2.91	91.95	-0.19	4.33

Explanatory notes / Objasnenia:

CH – crystalline sea salt, not stored / sól morska krystaliczna, nieprzechowywana; CP – crystalline sea salt, stored / sól morska krystaliczna, przechowywana; RH – ground sea salt, not stored / sól morska rozdrobniona, nieprzechowywana; RP – ground sea salt, stored / sól morska rozdrobniona, przechowywana.

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

Comparing the value of  $p < 0.000001$  in the one-way analysis of variance with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that the mean value of L\* parameter of the sea salts tested varied. Using a post-hoc Tukey's test and comparing the p values in the test with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that no significant differences were only between the salt taken from the packets (CH) and the stored salt (CP). In the remaining salts, the average level of the L\* lightness attribute was significantly different.

The range of  $a^*$  parameter in CH salts was between  $-0.32 \div -0.06$ , in CP salts between  $-0.40 \div -0.05$ , in RH salts between  $-0.30 \div 0.14$  and in RP salts between  $-0.19 \div -0.13$ . The  $a^*$  parameter indicates the colour saturation from green (negative values) to red (positive values). Negative values of the green colour shape the colour of the final product. In this case  $a^*$  parameter indicated the absence of other compounds that could affect the appearance of such shades in the salts tested. Based on the statistical analysis, there were no significant differences in  $a^*$  parameter as regards different types of CH, CP, RH and RP salts. Thus, it was found that both the storage and the grinding process did not significantly affect the value of  $a^*$  parameter assessed.

The value of  $b^*$  parameter for the CH products ranged between  $0.19 \div 1.66$ , for the CP products between  $0.23 \div 1.78$ , for the RH products between  $0.72 \div 2.91$  and for the RP products between  $0.77 \div 4.33$ . The  $b^*$  parameter indicates the colour saturation from blue (-) to yellow (+). As in the case of  $a^*$  parameter, based on the statistical analysis, there were no significant differences in  $b^*$  parameter between the different types of CH, CP, RH and RP salts.

Bulk and tapped density was another assessed parameter of sea salt quality related to the trading of loose goods (Tab. 4). Bulk density is the ratio of the mass of the particles and the volume occupied by them, including the free volume. It is not constant as it depends on the particle distribution, their shape and arrangement, and it affects the packing possibilities of the product [1, 5]. On the basis of the present research, it was found that product I had the highest bulk and tapped density of the crystalline salts taken directly from the packets (CH) (Tab. 4). For the remaining products, the value of the parameter evaluated was very similar and ranged between  $0.76 \div 1.17 \text{ g/cm}^3$  (Tab. 4). When assessing the stored unground salts (CP), a decrease was reported in the value of bulk and tapped density of the majority of products. Only for sea salt III a slight increase in the parameters assessed was found, despite the decrease in the water content in and water activity of the product stored (Tab. 2). Characterising the bulk and tapped density of the ground products taken from the packets (RH) and stored (RP), lower values of those parameters were reported because of the smaller size of particles. As for the ground salt taken directly from the packets (RH), the value of its bulk density was between  $1.24 \div 1.46 \text{ g/cm}^3$  and the tapped density between  $1.24 \div 1.46 \text{ g/cm}^3$ . On the other hand, in all the ground sea salts assessed after storage (RP) a decrease was found in both the bulk and the tapped density compared to the ground product before storage (RH). Comparing the  $p = 0.026623$  value in the one-way analysis of variance with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that the mean value of the tapped density of the salts analysed was different. To distinguish between the salts in terms of tapped density, a post-hoc Tukey's test was applied. Determined for each pair of comparisons, the least significant difference (LSD) was the same and amounted to 0.230531. Comparing the LSD value with the mean difference value, it was found that

significant differences existed only between the CP salt and RH ground salt from the packets. As of the remaining salts, the average tapped density was not significantly different. The same conclusion was drawn when comparing the p values in the post-hoc test with the  $\alpha = 0.05$  significance level.

Table 4. Bulk and tapped density and Hausner ratio of crystalline and ground sea salt (not stored and stored)

Tabela 4. Gęstość nasypowa luźna i utrzesiona oraz współczynnik Hausnera soli morskiej krystalicznej i rozdrobnionej (nieprzechowywanej i przechowywanej)

Salt code Kod soli	Parameter Parametr	Sea salt / Sól morska			
		CH	CP	RH	RP
I	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.26	1.11	1.01	0.83
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.28	1.25	1.41	1.09
	HR	<b>1.02</b>	<b>1.13</b>	<b>1.40</b>	<b>1.33</b>
II	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.14	1.14	0.99	0.91
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.17	1.15	1.32	1.24
	HR	<b>1.03</b>	<b>1.01</b>	<b>1.33</b>	<b>1.36</b>
III	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.09	1.18	1.05	0.97
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.11	1.32	1.26	1.17
	HR	<b>1.02</b>	<b>1.12</b>	<b>1.20</b>	<b>1.20</b>
IV	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	0.99	0.85	0.98	0.83
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.17	0.89	1.30	1.15
	HR	<b>1.18</b>	<b>1.05</b>	<b>1.33</b>	<b>1.39</b>
V	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.12	1.04	1.10	0.87
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.14	1.09	1.46	1.18
	HR	<b>1.02</b>	<b>1.04</b>	<b>1.33</b>	<b>1.36</b>
VI	$\rho_L$ [g/cm <sup>3</sup> ]	0.76	0.66	0.93	0.84
	$\rho_T$ [g/cm <sup>3</sup> ]	0.82	0.76	1.24	1.13
	HR	<b>1.08</b>	<b>1.16</b>	<b>1.33</b>	<b>1.35</b>

Explanatory notes / Objasnenia:

$\rho_L$  – bulk (loose) density / gęstość luźna,  $\rho_T$  – tapped density / gęstość utrzesiona, HR – Hausner ratio / współczynnik Hausnera. Other explanatory notes as in Tab. 3. / Pozostałe objasnenia jak pod tab. 3.

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

The values of Hausner ratio (HR) for the tested sea salts I - VI (Tab. 4) were compared with the classification proposed by Samborska et al. [10]. The HR value informs about the consistency of products related to the cohesive forces. It was found that the unground salts taken from the packets (CH) and the salts after storage (CP) were characterised by HR ranging between 1.02 – 1.18. The materials showing HR below 1.2 are referred to as low cohesion products. In the case of the ground sea salts taken from the packets (RH) and the stored ground salts (RP), an increase was found in

the value of the HR coefficient. The ground salts tested were characterised by a medium cohesiveness value ( $HR = 1.2 \div 1.4$ ). Comparing the p values in the post-hoc Tukey's test with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that no significant differences existed only between the HR values of the CP and CH products and the RP and RH products. In the remaining cases, there were statistically significant differences between the values of the HR parameter evaluated.

Another parameter to characterise the quality of sea salts was a static angle of repose; it defines the storage area and storage capacity the product would occupy. The static angle of repose is defined as an angle between the generatrix and the base of the cone of a pile formed when the powder is freely poured; it is another flow indicator of the product [12]. It is assumed that with the increasing value of the angle, the flow of the product is lower, and the products with an angle above  $50^\circ$  are characterised by low fluidic properties in contrast to free-flowing products, the angle of repose of which is smaller than  $40^\circ$  [7]. Based on the assessment of the angle of repose, it was found that all assessed sea salts were characterised by poor flow properties. The products stored and subjected to grinding had a higher value of the static angle of repose (Tab. 5). Comparing the p value  $< 0.000001$  in the one-way ANOVA with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that the mean value of the angle of embankment of the investigated sea salts was different. Comparing the p values in the post-hoc Tukey's test with the  $\alpha = 0.05$  significance level, it was found that the statistically significant differences existed between the angle of repose of all the assessed variants of the tested sea salts I - VI.

The kinetic angle of repose (sliding angle) is the minimum angle formed between the horizontal plane and the top layer of the inclined surface, at which the sliding of the loose material begins. Therefore, the kinetic angle of repose of sea salts is an important quality distinguishing feature. The value of the kinetic angle of repose depends on the mineral composition, degree of coating of the particles and their mutual arrangement (packing ratio). On the basis of the research conducted, it was found that as for the not stored crystalline sea salts (CH), the value of the sliding angle ranged between  $23^\circ \div 48^\circ$ , whereas for the crystalline stored products (CP) was between  $23^\circ \div 34^\circ$ . Thus, it was found that the storage process of the crystalline sea salts caused the value of the assessed parameters to decrease (Tab. 5). Based on the analysis of the results of the sliding angle carried out by the post-hoc Tukey's test, it was found that there were no statistically significant differences between the crystalline sea salt taken from the packets (CH) and the stored salt (CP). As for the remaining salts, the mean value of the kinetic angle of repose from the smooth surface was significantly different.

Table 5. Values of static angle of repose and kinetic angle of repose from surface of crystalline and ground sea salt (not stored and stored)

Tabela 5. Wartość kąta nasypu i kąta zsypu z powierzchni gładkiej soli morskiej krystalicznej i rozdrobnionej (nieprzechowywanej i przechowywanej)

Salt code Kod soli	Static angle of repose Kąt nasypu [°]				Kinetic angle of repose Kąt zsypu [°]			
	CH	CP	RH	RP	CH	CP	RH	RP
I	53.19	43.92	57.03	51.38	29	20	41	42
II	51.48	41.68	57.95	50.37	27	22	47	45
III	51.39	42.42	55.26	49.69	23	21	75	55
IV	52.63	45.26	57.44	51.78	48	34	53	60
V	51.57	42.55	58.05	50.72	29	16	78	57
VI	52.27	47.29	58.78	52.78	34	30	43	62

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

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

Table 6. Parameter values received by Student's t-test and referring to CH and RH salts before storing

Tabela 6. Wartość parametrów testu t-Studenta dotyczące soli nieprzechowywanych CH i RH

Parameter / Parametr	CH	RH	t	df	P
Water content Zawartość wody	1.17223	1.17223	0	10	1
Water activity Aktywność wody	0.48434	0.48434	0	10	1
Colour / Barwa: L*	74.91889	94.59611	-6.56812	10	<b>0.000063*</b>
Colour / Barwa: a*	-0.175	-0.19389	0.41812	10	0.684697
Colour / Barwa: b*	0.91444	1.38111	-1.18292	10	0.264202
Bulk loose density Gęstość luźna [g/cm <sup>3</sup> ]	1.06	1.01	0.67791	10	0.51321
Tapped density / Gęstość utrzessiona [g/cm <sup>3</sup> ]	1.115	1.33167	-2.98335	10	<b>0.013729*</b>
Hausner ratio Współczynnik Hausnera	1.05653	1.31942	-6.99698	10	<b>0.000037*</b>
Static angle of repose Kąt nasypu	52.08833	57.41833	-9.22631	10	<b>0.000003*</b>
Kinetic angle of repose Kąt zsypu	31.66667	56.16667	-3.24305	10	<b>0.008824*</b>

Explanatory notes / Objasnienia:

df – degrees of freedom / stopnie swobody; p – probability / prawdopodobieństwo. Other explanatory notes as in Tab. 3. / Pozostałe objasnienia jak pod tab. 3.

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

The value of the kinetic angle of repose for the ground products (RH) ranged between  $41^\circ \div 78^\circ$ , while for the stored ground products (RP) between  $42^\circ \div 62^\circ$ . On the basis of the assessment, it was found that the grinding process increased the value of the sliding angle, which may probably resulted from a higher value of the friction coefficient between the fragmented sample and the smooth surface of which the test material was poured.

On the basis of the research results, an attempt was made to statistically evaluate (using a Student's t-test) the relationship between the tested products in the crystalline form (CH) and fragmented form (RH) before storage (Tab. 6).

In the case of the stored crystalline (CP) and fragmented (RP) products, based on the data analysis performed by Student's t-test, it was found that there were statistically significant differences in the mean L\* parameter, Hausner ratio and angles of repose (Tab. 7).

Table 7. Parameter values received by Student's t-test and referring to CP and RP salts after storage  
Tabela 7. Wartość parametrów testu t-Studenta dotyczące soli przechowywanych CP i RP

Parameter / Parametr	CP	RP	t	df	P
Water content Zawartość wody	1.21433			10	
Water activity Aktywność wody	0.39251			10	
Color / Barwa: L*	74.78667	94.52556	-10.873	10	<b>0.000001*</b>
Color / Barwa: a*	-0.19056	-0.155	-0.6098	10	0.555621
Color / Barwa: b*	0.81056	1.76778	-1.6757	10	0.124725
Bulk (loose) density Gęstość luźna [g/cm <sup>3</sup> ]	0.99667	0.875	1.4231	10	0.185153
Tapped density / Gęstość utrzesiona [g/cm <sup>3</sup> ]	1.07667	1.16	-0.9264	10	0.376038
Hausner ratio Współczynnik Hausnera	1.08337	1.3282	-7.018	10	<b>0.000036*</b>
Static angle of repose Kąt nasypu	43.85293	48.89679	-4.8127	10	<b>0.00071*</b>
Kinetic angle of repose Kąt zsypu	23.83333	53.5	-6.8522	10	<b>0.000044*</b>

Explanatory notes as in Tab. 6. / Objasnenia jak pod tab. 6.  
Source / Źródło: the authors' own study / opracowanie własne.

In order to compare the relationships between the assessed salts I - VI in the not stored crystalline (CH) and ground (RH) products, a cluster analysis was used, which allowed to distinguish two groups (clusters) in the crystalline products and two groups in the ground products (Fig. 2). The first group comprised the sea salts I (CH) and IV

(CH). In the second group a similarity was revealed to exist among the sea salt samples II (CH), III (CH), V (CH) and VI (CH). Based on the multivariate analysis of clusters in the not stored ground products, it was found that the sea salts I (RH), II (RH), IV (RH) and VI (RH) were the most similar to each other. Thus, as for the stored products, it was found that the grinding process had the strongest impact on the change in the parameters of the sea salts II (RH) and VI (RH) (Tab. 6).

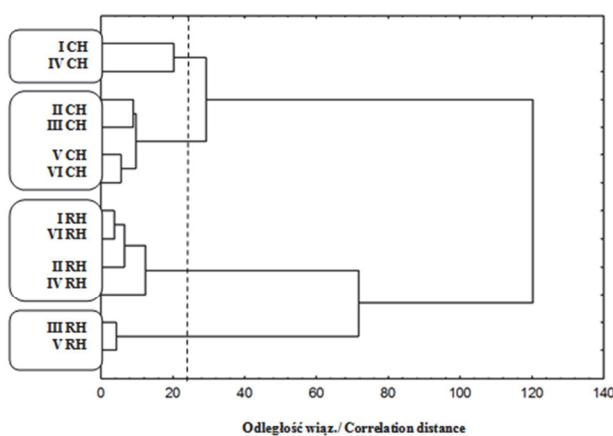


Fig. 2. Tree diagram showing relationship between determined quality parameters for not stored sea salt – crystalline (CH) and ground (RH)

Rys. 2. Diagram drzewa odzwierciedlający powiązania pomiędzy wyznaczonymi parametrami jakości soli morskiej nieprzechowywanej – krystalicznej (CH) i rozdrobnionej (RH)

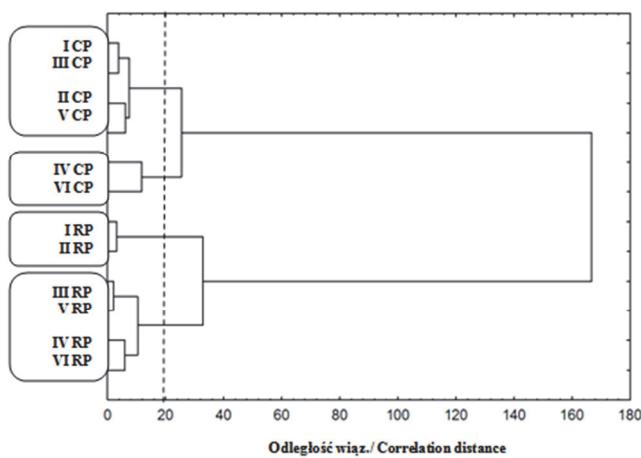


Fig. 3. Tree diagram showing the relationship between determined quality parameters for stored sea salt – crystalline (CP) and ground (RP)

Rys. 3. Diagram drzewa odzwierciedlający powiązania pomiędzy wyznaczonymi parametrami jakości soli morskiej przechowywanej – krystalicznej (CP) i rozdrobnionej (RP)

In the case of the stored crystalline (CP) and ground (RP) products, two clusters were also distinguished in the crystalline products and two clusters in the ground products (Fig. 3). The first concentration in the stored crystalline products comprised the sea salts I (CP), II (CP), III (CP) and V (CP). In the second cluster a similarity was revealed to exist among the sea salts IV (CP) and VI (CP). Based on the analysis conducted, it was proved that the process of storage and fragmentation had the strongest impact on the change in the parameters of the sea salts III (RP) and V (RP) (Fig. 3).

### Conclusions

1. Based on the assessment of water content and water activity, it was found that the storage process caused the assessed parameters of the sea salts I - III and VI to decrease. On the other hand, as regards the sea salts IV and V, there was reported an increase in the water content and water activity after 12-month storage.
2. Based on the assessment of the L\* brightness parameter, no statistically significant differences were found between the not stored and stored crystalline salts. On the other hand, in the fragmented products, the level of the L\* colour attribute was statistically significant for all the variants tested.
3. On the basis of the Hausner ratio value, it was found that the crystalline products taken from the packets and stored were characterised by low consistency. On the other hand, based on the grinding process of the sea salts I - VI assessed, it was possible to classify them as materials characterised by a medium cohesiveness.
4. The grinding process resulted in an increase in the value of the static and kinetic angle of repose and, based on the obtained values of those parameters, all the assessed sea salts were classified as the products of poor flow properties.

### References

- [1] Abdullah E.C., Geldart D.: The use of bulk density measurements as flowability indicators. Powder Technology, 1999, 102 (2), 151-165.
- [2] Abdullah E.C., Salam A.M., Aziz A.R.: Cohesiveness and flowability properties of silica gel powder. Physics International, 2010, 1(1), 16-21.
- [3] Beakawi Al-Hashemi H.M., Baghabra Al-Amoudi O. S.: A review of angle of repose of granular materials. Powder Technology, 2018, 330, 394-417.
- [4] Cheng N.-S.: Angle of repose. In: Encyclopedia of Engineering Geology. Eds. P.T. Bobrowsky, B. Marker. Springer, Cham 2018, pp. 23-24.
- [5] Domian E.: Sypkość aglomerowanej modelowej żywności w proszku. Acta Agrophysica, 2005, 3 (6), 605-615.
- [6] Leśmian-Kordas R.: Terminy i definicje wybranych właściwości fizycznych ładunków, istotnych w składowaniu, przeładunku i przewozie. Zesz. Nauk. Wyższej Szkoły Morskiej w Szczecinie, 2001, 61, 59-73.

- [7] Peleg M.: Flowability of food powders and methods for its evaluation. A review. *J. Food Proc. Eng.*, 1978, 1, 303-328.
- [8] PN-ISO 8460:1999. Kawa rozpuszczalna. Oznaczanie gęstości nasypowej swobodnej i gęstości nasypowej ubitej.
- [9] Ruszkowska M., Wiśniewska A.: Ocena wybranych napojów roślinnych w proszku – charakterystyka właściwości fizykochemicznych. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni*, 2017, 99, 103-113.
- [10] Samborska K., Choromańska A., Witrowa-Rajchert D., Bakier S.: Suszenie rozpyłowe miodu pszczelego z maltodekstryną. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2011, 21 (1), 19-23.
- [11] Schulze D.: Powders and Bulk Solids. Behavior, Characterization, Storage and Flow. Springer, Berlin 2008.
- [12] Szulc K., Estkowski J., Tuwalski A., Lenart A.: Wpływ aktywności wody na sypkość mleka w proszku o różnym składzie surowcowym. *Acta Agrophysica*, 2012, 1 (19) 195-202.
- [13] Tomporowski T., Opielak K.: Wpływ stopnia rozdrobnienia materiału na proces transportu i magazynowania materiałów sypkich. *Logistyka*, 2014, 6, 1-4.
- [14] Vella D., Marcone M., Duizer L.M.: Physical and sensory properties of regional sea salts. *Food Res. Int.*, 2012, 45 (1), 415-421.

## WPŁYW PRZECHOWYWANIA NA PARAMETRY JAKOŚCI SOLI MORSKIEJ

### S t r e s z c z e n i e

Sól spożywcza (chlorek sodu) to jeden z najpowszechniej występujących związków na kuli ziemskiej. Sól morska pozyskiwana jest poprzez odparowanie wody morskiej. Z uwagi na pochodzenie ten rodzaj soli odznacza się naturalną zawartością jodu i innych cennych związków mineralnych (litu, magnezu, cynku, selenu). Sól morska ma bardziej wyrazisty smak niż sól spożywcza, co sprawia, że używana jest w mniejszych ilościach, a ze względu na stosunkowo małą zawartość sodu uważa się ją za najzdrowszą. Naturalne kryształy soli morskiej utrudniają proces pakowania i przechowywania, jak również jej rozpuszczanie w procesie technologicznym oraz podczas przygotowania potraw przez konsumentów w warunkach domowych. W związku z powyższym celem niniejszej pracy była ocena wpływu przechowywania na parametry jakości soli morskiej krystalicznej (handlowej) i rozdrobnionej w warunkach laboratoryjnych. Materiałem badanym było 6 prób soli morskiej, które oceniono w postaci krystalicznej (CH) oraz rozdrobnionej (RH) bezpośrednio po zakupie oraz po przechowywaniu przez 12 miesięcy – sól morska krystaliczna (CP) oraz sól morska rozdrobniona (RP). Ocenę jakości prób soli określono na podstawie: zawartości i aktywności wody, oceny barwy, oznaczenia gęstości nasypowej luźnej i utrzesionej, pomiaru kąta nasypu oraz kąta zsypu z powierzchni gładkiej. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono statystycznie istotne różnice między próbami soli krystalicznej i rozdrobnionej, pobranymi z opakowania po zakupie jak i przechowywanymi, pod względem parametru barwy  $L^*$  (jasności), wartości współczynnika Hausnera oraz wartości kąta nasypu i zsypu z powierzchni gładkiej. Przeprowadzona ocena jakości prób soli morskiej przechowywanych i rozdrobnionych może stanowić przyszłe rekomendacje zarówno dla konsumentów, jak i technologów żywności poszczególnych branż przemysłu spożywczego.

**Słowa kluczowe:** sól morska, zawartość wody, aktywność wody, barwa, gęstość nasypowa luźna, gęstość nasypowa utrzesiona, kąt nasypu, kąt zsypu 

MAGDALENA KOPACZ, AGNIESZKA PIEKARA,  
MAŁGORZATA KRZYWONOS

## FERMENTED VEGAN FOODS

### S u m m a r y

In recent years, an increase has been reported in consumer awareness of balanced diet and health prevention. This caused the consumer interest in functional foods to increase. The major functional foods are products that contain prebiotics and probiotics. The most often eaten probiotic product is classic yogurt, however the fermented dairy and non-dairy drinks tend to be more and more important. The increase in number and types of milk-free drinks on the market is due to increasing lactose intolerance among consumers. Additionally, in the developed countries gradually rises the number of people who are switching to veganism. The search for suitable substitutes for dairy milk and dairy products has become an important direction of scientific research and implementation projects in industry. The objective of the paper is to review the reference literature presenting results of research studies and experiments on the production and qualities of non-dairy probiotic products, that could be classified into vegan foods. New probiotic food in the form of drinks, which are already on the market or are still in research phase, are made of raw materials such as: vegetables, fruits, grains (oats, buckwheat, spelt wheat, corn, quinoa, amaranth), hazelnuts, coconuts, almonds, cashew nuts, and also sesame and hemp seeds. It is a big challenge for technologists to manufacture food products for vegans, because the vegan diet is more restrictive than a vegetarian one, therefore possibilities of using many raw materials are limited.

**Key words:** veganism, fermented foods, probiotics, prebiotics

### Introduction

In recent years, an increase has been reported in consumer awareness of food-related problems. The boosted awareness resulted in the increased interest in functional foods. The functional food market develops globally and is one of the most fascinating areas of research and innovation in the food sector, which is related with the growing number of scientific papers in the reference literature on this subject [8, 23, 33, 34, 50].

---

*Mgr inż. M. Kopacz, dr A. Piekara, Katedra Inżynierii Bioprocesowej, Wydz. Inżynierii Produkcji, prof. dr hab. inż. M. Krzywonos, Katedra Zarządzania Procesami, Wydz. Zarządzania, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, ul. Komandorska 118-120, 53-345 Wrocław.*

*Kontakt: magdalena.kopacz@ue.wroc.pl*

One branch of functional foods includes fermented dairy drinks and yogurts. Those fermented beverages contain health-beneficial probiotics consisting mainly of the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Those probiotic strains, when supplied in adequate proportions, improve the balance of gastrointestinal microbiota of the host. It is believed that a low fibre intake, which can upset the microbiota of the human gastrointestinal tract, is one of the causes of the increasing number of chronic diseases in humans, for example cardiovascular disease, obesity or colon cancer. It raises the risk of gastrointestinal disorders, fungal colonization and inflammatory gut disease. Life-style, antibiotics, stress levels, invasive medical procedures and most of all, the type of diet are all said to have a significant impact on the state of gastrointestinal microbiota [15]. Probiotic products should contain a minimum daily dose of microorganisms [37], that is a required dose so as to guarantee specific health benefits i.e. boosting the immune system, increasing the bioavailability of nutrients, reducing the symptoms of lactose intolerance, suppressing the growth of pathogenic bacteria, decreasing the number of toxins produced by said bacteria and reducing the risk of certain types of cancer by, for example, indicating carcinogenic properties in chemoprevention of the large intestine [32]. Prebiotics are carbohydrates that occur naturally in food that are not digested in the small intestine and reach the large intestine in their original form [23]. The definition of prebiotics overlaps, to a certain extent, with the definition of fibre. The difference between the two definitions comes down to that the prebiotics display selectivity only towards certain bacterial strains, especially *Bifidobacteria* and lactic acid bacteria (LAB) [30, 52]. The following are the prebiotics usually used in human diet: lactulose, galactooligosaccharides, fructooligosaccharides, inulin (and its hydrolysates) and malto-oligosaccharides. They can all be found in various vegetables and fruits such as chicory, onion, garlic, asparagus, artichoke, leek, banana, tomatoes and many others [41, 42]. In addition to the health benefits, prebiotics possess significant technological advantages, such as the ability to improve the quality of taste and consistency, and emulsion stability. By combining probiotics and prebiotics in food products, a group of functional products is produced, which are referred to as synbiotics [24, 30]. The consumption of products containing synbiotics can balance the gut microbiota by raising the levels of *Bifidobacteria* [4, 24, 30]. Probiotics and prebiotics are applied more and more frequently as additives in non-dairy products [25].

The objective of the paper is to review the reference literature on the subject of milk-free probiotic products, which may serve as alternative foods for vegans.

## Veganism

Veganism is becoming an increasingly popular modern-day lifestyle trend [26, 29]. It is an extreme variation of vegetarianism, because it advises abstaining from consuming and using all the animal products. Other types of the vegetarian diet are

more or less restricted and tolerate the consumption of the following: dairy products (lacto-vegetarians), eggs (ovo-vegetarians), dairy products and eggs (ovo-lacto vegetarians), only raw fruits and vegetables (raw foods diet), only fruits and vegetables the consumption of which do not cause the death of the plant (fruitarianism), raw foods in the form of a liquid (liquidarianism), only sprouts and seeds (sproutarian diet) [10, 29]. Researchers point out various reasons for adopting a vegan lifestyle. Among them, there are ethical and moral motives, reasons related to health benefits, feeling distaste towards meat products or being influenced by a friend group. When conducting their survey, Janssen et al. [17] noticed that many consumers, who chose to follow a vegan diet, based their choices on more than one reason. Dyett et al. [11] examined whether vegans, whose choice was driven by health-related reasons, practiced other forms of health-promoting activities and whether they showed more positive health results compared to those who chose veganism based on the motives other than health. Based on the analysis of the survey conducted in USA ( $n = 100$ ), it was found that there was no significant difference between health behaviours of vegans, whose choice of lifestyle was dictated by different motive categories.

So far, the results of the research on health condition and nutrition of vegans determined that vegans had an average body mass index (BMI), lower levels of cholesterol and blood pressure. Also, they faced a lower risk of developing cardiovascular diseases and diabetes. Moreover, the vegan diet can reduce the risk of certain types of cancer to develop [24, 28]. However people who strictly follow vegan and vegetarian diets are more prone to a vitamin B12 deficiency [20, 51]. Such a deficiency is higher in vegans than in vegetarians. Cyanocobalamin (B12) occurs mainly in meat, shellfish, eggs, milk and other dairy products. That is why vegans and vegetarians strive to supply the body with the said vitamin through consuming special food products rich in vitamin B12 [20, 51]. Foods of plant origin do not contain vitamin B12 (except algae), but they can be fortified with it as in the case of some breakfast cereals. Vitamin B12 is responsible for producing erythrocytes and supporting the proper functioning of the central nervous system. Its deficiency can cause cardiovascular disorders, cerebrovascular disorders and macrocytic anemia. Despite the deficiencies and complications many vegans believe that the additional supplementation of cyanocobalamin is not required, because it occurs only after a long time when the reserves of vitamin B12 stored in the liver run out [9]. Siebert et al. [44] studied the impact of using a B12-fortified toothpaste on the status of B12 in vegans. The test was conducted on a group of vegans who used this toothpaste over a period of 12 months. Each of the participants was diagnosed with a vitamin B12 deficiency before the start of the study. The levels of vitamin B12 were checked before and after the period of using the toothpaste; the latter caused the vitamin B12 markers in the blood of vegans to be corrected.

Many vegans include the philosophy of following the diet into other areas of their life and treat it as a lifestyle with defined ethical, spiritual and environmental standards. Since the beginning of the 21<sup>st</sup> century the availability of vegan foods has much improved in the shops and supermarkets in many countries; this is related to the significant increase in the number of vegans in that period. Even though the percentage of people following a vegan diet constitutes only a fraction of the world population, it can be assumed that their influence on food industry will continue to grow [11, 17, 48]. It opens up a lot of opportunities for food producers who, by introducing new and innovative products, want to satisfy the needs of consumers even if the industry is not yet prepared to satisfy the needs of the vegan food market. Therefore, the vegans themselves fill the gaps by preparing at home the products not available on the market or by buying artisanal products that do not undergo strict control in terms of hygiene [43]. The most evident products the vegan diet lacks are dairy products. Their absence makes the vegan diet highly different from the vegetarian diet. The search for fitting replacements for milk and dairy products has recently resulted in conducting many studies into a wide variety of products in order to determine whether or not they could serve as fitting substrates in the production of new non-dairy products. Those new non-dairy products in the form of drinks contain probiotic strains derived from vegetables, fruits and grains (such as oats, buckwheat, spelt wheat, corn, quinoa or amaranth). The drinks made from soy were always used to replace cows' milk, but currently a wider range of plant-based products is applied. Many products are produced using hazelnuts, coconuts, almonds, cashew nuts, sesame and hemp seeds. Such drinks are available in many varieties: sweetened, unsweetened, ecological and enriched. They provide various ingredients and support disease prevention. The drinks are also available in a variety of tastes [22, 23]. The drinks are produced with the use of selected lactic bacteria, mainly the strains with proven sensory features. Their fermentation takes place under the controlled conditions. Owing to various organic acids produced, they inhibit the growth of undesirable bacteria, thereby preserving the food. Moreover, the resulting products have specific tastes and aromas [36, 37]. The utilization of those drinks is often restricted because of the sensitivity of their ingredients, the concerns about contamination and the low storage viability of strains. Currently there are carried out research to resolve those issues [37].

### Cereals

Many non-alcoholic drinks made from fermented cereals are produced worldwide (Tab. 1). Those drinks are associated with various traditions and preferences that differ based on the region of their origin [40]. Some of the probiotic drinks were developed using germinated and non-germinated seeds of barley, finger millet and moth bean [1, 6, 40]. Made from fermented cereals, kvass is a non-alcoholic beverage found in some

regions of the eastern European countries (Poland, Latvia, Russia and Ukraine) [13, 21].

The results of fermentation, carried out with the above specified cereals and culture combinations, could provide more information on the compounds, which are most important for the final consumer acceptance (taking into account such indicators as taste, colour, clarity and intensity of sweet taste) of cereal beverages, and on how those components could be enhanced with the use of different technological conditions and starter cultures [12, 49]. More popular ancient or ethnic grains pose a big challenge for food technologists in terms of fermentation, because they need to merge appropriate technologies and sensory properties with nutritional benefits [7, 34].

Table 1. Examples of non-alcoholic drinks made from fermented cereal products

Tabela 1. Przykłady napojów bezalkoholowych wyprodukowanych z fermentowanych surowców zbożowych

Name Nazwa	Seeds of cereal or pseudo-cereal Nasiona zboża lub pseudozboża	Country or region of origin Kraj lub region pochodzenia	References Literatura
Boza	wheat, millet, rye, corn pszenica, proso, żyto, kukurydza	Albania, Bulgaria, Turkey, Romania Albania, Bułgaria, Turcja, Rumunia	[1, 14, 44]
Bushera	millet, sorghum / proso, sorgo	Uganda	[6, 12]
Mahewu	corn / kukurydza	Africa / Afryka	[6, 12]
Pozol	corn / kukurydza	Mexico / Meksyk	[6, 12]
Chyang (kodo ko jaanr)	barley or finger millet (ragi) jęczmień albo manneczka lękowata	North-eastern India Północno-wschodnie Indie	[13, 41]
Kunu-zaki and pito / Kunu-zaki i pito	barley, finger millet, moth bean <i>(Vigna aconitifolia)</i> / jęczmień, manneczka lękowata, fasola matowa ( <i>Vigna aconitifolia</i> )	Nigeria	[12]
Kvass Kwas chlebowy	fermented cereals fermentowane zboża	Poland, Latvia, Russia, Ukraine Polska, Łotwa, Rosja, Ukraina	[13, 21]

## Vegetables

Special attention should be given not only to the natural nutrients in food and their positive effect on health, but also to the phytochemicals in vegetables. More and more attention is given to the pro-health and dietary properties of soured vegetables. They contain carbohydrates and therefore they are suitable substrates and can be used to carry out lactic acid fermentation. Fruits and vegetables are known to be perishable goods because of their high water activity. Therefore fermentation is one of the methods to preserve them. Fermented vegetable juices can be produced by the natural plant fermentation, i.e. by squeezing out juices as in the case of sauerkraut or by fermenting

the juice. The juice fermentation can be either a spontaneous process activated by natural microflora, a process launched by starter cultures added to raw materials or a process where raw materials undergo heat-treatment and ferment with the use of starter cultures. The soured products produced using those fermentation processes have low calorific value, contain fibre, vitamin C, B-group vitamins and antioxidants. Their nutritional value improves during the fermentation process [35, 45]. Chinese cabbage, cabbage, tomatoes, carrots and spinach have higher fermentability for they contain fermentable saccharides. The fermented vegetable juices are most often produced using red beets, carrots, celery and tomatoes. Turnips, radishes, sweet potatoes, olives, peppers, peas, horseradish and cauliflowers are also used for pickling. Rakin et al. [38] fermented beetroot and carrot juice with the added yeast autolysis. After the completion of the process, the juice had an optimal proportion of pigments, vitamins and minerals compared to the beetroot or carrot juice. Yoon et al. [57] fermented cabbage juice and concluded that *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* were those lactic acid bacteria that should be used to carry out such a process. Traditional Korean kimchi is an interesting fermented product. It consists of fermented vegetables, mainly the Korean cabbage, radish with garlic, red pepper and green onion [31]. It has a sweet and sour flavour, which makes it different from the sauerkraut or pickled cucumbers that are popular in the West. To achieve such a taste, the process of fermentation should be carried out at lower temperatures to avoid the development of a strong acid [18, 19].

## Soy

Soy is the most popular product used as a milk replacement; owing to its characteristics, it has an enormous potential in the food industry [54]. Other popular soy foods are miso, natto and tempeh [53, 54]. Owing to its properties, it helps prevent the risk of certain heart diseases, osteoporosis and kidney diseases [5, 54]. The fermentation of soy drinks increases the bioavailability of isoflavones, improves digestion of protein, supports the immune system and promotes gut health. Soy isoflavones (daidzein, genistein and glycinein) are the focus of recent interest in the nutritional benefits, because those phytoestrogens occur in relatively high concentrations in soy products [5, 56]. However, the application of isoflavones is still controversial because of their anti-estrogenic properties [56].

What is more, oligosaccharides found in the soy milk cause flatulence and the fermentation of soy drinks makes them easier to digest. The lactic acid bacteria-based fermentation makes it possible to produce products showing better consumer acceptability, such as soy cheese, soy yogurt or fermented soy milk drinks. The distinctive taste of soy milk can be masked by adding sugar, aromas, fruit pastes and juices. The fermented soy drinks and yogurts can be additionally enriched with inulin and oligofructose. In order to improve the acceptability of the final product, İçier et al. [16] at-

tempted to prepare – using *Lactobacillus acidophilus* – a soy drink with apple juice added. According to the results, the addition of apple juice (at concentration rates of 15 %, 25 %) had no significant effect on the growth of *L. acidophilus*. However, the panellists preferred the fermented soy milk beverages with 25 % of apple juice added (in terms of the following parameters: colour, consistency, acidity, apple flavour). It turned out their product was sensory acceptable and guaranteed microbiological stability.

### Fruits

Lately, researchers have been interested in fruit drinks with probiotic and prebiotic substances added. Fruit juices contain beneficial nutrients such as vitamins, fibre, antioxidants and minerals. In addition, they do not contain dairy allergens. They are regarded to be healthy, refreshing and possessing a pleasant flavour profile, which makes them a perfect raw material for use in the production of fermented drinks [35, 45, 47]. An example of a fruity probiotic drink is hardaliye, a Turkish product made from naturally fermented red grapes [1, 2]. In their study, Luckow et al. [22] compared the consumer acceptance of the appearance, aroma, texture and flavour of fermented blackcurrant juice (containing *Lactobacillus plantarum* 299v cultures) with the conventional juice ( $n = 425$ ). It was determined that females over 40 and the older consumers significantly preferred the sensory qualities of the probiotic juice. What's more, they declared to be willing to drink probiotic juices a few times a week. Also, those authors carried out a research study on the effect of functional ingredients on the aromas and flavours of orange juices. In this case, the results of the research indicated that the consumers preferred the conventional juices.

The most popular fruits that are grown in the temperate zone are: cherries, pears and peaches [33, 42]. Seasonal, tropical fruits are also well-liked, for example watermelons, pomegranates, unripe mangoes, lemons, bananas, papayas and pineapples. From the economical point of view, jackfruit, sapota, jamun, fenu and the cashew are most important. The tropical fermented juices are characterised by their nutraceutical potential when treating fever, cold, diabetes and skin conditions. Their strong antioxidative properties make them suitable for use in both the pharmaceutical and the food industry [33]. The issues one can come across when producing fermented fruit juices are associated with the limited viability of probiotics. The following parameters impact probiotics: pH, water activity, occurrence of sugar, salt, artificial aromas, food dyes and preservatives. There are two main criteria that have to be met – the content of probiotics (at least 10<sup>6</sup> - 10<sup>7</sup> cells/ml) has to be maintained as has the activity of probiotics in food products at the end of their shelf life. Important are also the following processing parameters: extent of heat treatment, incubation temperature, packaging materials and storage. Of all the parameters listed, pH is one of the most important

parameters, because fruit juices have naturally high levels of organic acids. The easiest way to improve the probiotic stability in fruit juices is to fortify them with prebiotics, for instance with a dietary fibre [39].

### **Nuts and chestnuts**

Researchers start to get interested in the products made from fermented nuts; so far there is still not much information about those processes [37]. In this category the main products are those made from cashews, almonds, macadamia nuts and other nuts. The nuts are soaked, minced with the water they were soaked in, and fermented using the spontaneous fermentation process. Tabanelli et al. [46] attempted to produce products made from cashew nuts; then, their products were used in the pilot study. The contents of essential fatty acids in them made it nutritionally and commercially valuable. However, further research is necessary on how to shorten the time of fermentation.

Chestnuts are another product studied by researchers. This raw material is low in fat and high in carbohydrates. Chestnuts are a great source of vitamins C, E, B1, B2, B3, pantothenic acid, folic acid, as well as important microelements and macroelements [27]. They contain gallic and ellagic acids and have antioxidant, anti-inflammatory and anticancerogenic properties. Chestnuts are consumed mainly in the form of fresh fruit; on the market they can also be found in the more processed form, for example jams. Fruits that do not meet higher quality requirements (e.g. broken or dry chestnuts) are used to produce flour, non-alcoholic drinks or as animal feed [3, 27, 39]. In order to search for alternative foods, Blaiotta et al. [3] examined the usefulness of dried chestnuts for the production of lactose-free and low-fat beverages. The idea was to prepare chestnut purees fermented by selected lactic acid bacteria strains. The *in vitro* tests performed proved the probiotic potential of selected *Lactobacillus rhamnosus* and *L. casei* strains. The research conducted confirmed the possibility of preparing chestnut purees. It is possible to state that a new concept of food has been created, where the nutritional qualities of chestnuts were combined with the human health benefits of lactic acid bacteria strains [3].

### **Irritable bowel syndrome**

Fermentation processes are important not only because of the probiotics found in the fermented products, but also because fermentation is one of the methods to reduce the amount of fermentable short-chain carbohydrates [49, 55]. A lot of fermentable short-chain carbohydrates can be found in a vegan diet. In the long run vegetarian diet can cause irritable bowel syndrome characterised by persistent gastrointestinal symptoms, for example flatulence. It is a challenge for vegans how to combine the pure plant-based diet with the one with no fermentable short-chain carbohydrates. To treat the above mentioned diseases, the FODMAP (oligosaccharides, disaccharides, mono-

saccharides and polyols) diet is advised [53]. Under the low FODMAP diet it is recommended to reduce the consumption of legumes, nuts, seeds and soy-based products, i.e. the most frequently consumed food products by vegans [26]. To date, all of the usual vegetables, fruits, grains and nuts have been examined [49]. Based on the research results, it was found that of the products consumed by vegans, a low FODMAP level have canned coconut milk, nutritional yeast, soy cheese, tempeh, vegan yolk, egg replacement and spirulina. In addition to fermentation, the following methods can reduce the content of FODMAP: soaking, boiling, sprouting, enzymatic treatment, extraction using ethanol, genetic manipulation and dehydration. Boiling seems to be an effective method for the oligosaccharides that are water-soluble. The oligosaccharides that remain in water are removed with it. Pickling and preserving are food processing techniques to cause the highest reduction of fermentable short-chain carbohydrates [49].

### Conclusions

The vegan diet is more restrictive than the vegetarian diet. There are sought products to diversify the vegan diet. These include dairy-free probiotic products. Many consumers might support new products provided they know such products are beneficial for both the human health and the environment. However, it must be mentioned that the nutritional, not the environmental, information had a stronger effect on how the participants appreciated the product and whether or not they were willing to purchase it.

The application of the mixed-culture fermentation is very important in regards to improving the sensory qualities and nutritional value of plant-based materials. The creation of mixed cultures depends both on the species and strains. Currently, the strain combination is still made with a trial and error approach. The knowledge of microbial interactions is insufficient, thus it is difficult, if not impossible, to predict the results of mixed cultures. To develop desired fermentation processes and finally products of higher quality, it would be of great help to find methods of choosing a more rational selection and combination of strains, so that predictable synergistic reactions might happen.

The variety of flavours and health benefits of vegan products cause the vegetable fermentation to gradually become more and more common. However the lack of information on the microbiological process is cause for concern about the food safety. The food industry makes a great effort to respond to this expanding market although the food safety of some plant-based products has not been well established.

The fermented products, e.g. nut and grains milk, fruits and vegetables, may be a source of biogenic amines. However, the levels of such compounds should be taken into consideration before including such products into a daily diet.

The project is financed by the Ministry of Science and Higher Education in Poland under the programme "Regional Initiative of Excellence" 2019 - 2022. Project number 015/RID/2018/19. Total funding amount 10 721 040,00 PLN.

Authors thank Professor Tadeusz Miśkiewicz for comments that greatly improved the manuscript.

## References

- [1] Altay F., Karbancioglu-Güler F., Daskaya-Dikmen C., Heperkan D.: A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *Int. J. Food Microbiol.*, 2013, 167, 44-56.
- [2] Arici M., Coskun F.: Hardaliye: Fermented grape juice as a traditional Turkish beverage. *Food Microbiol.*, 2001, 18 (4), 417-421.
- [3] Blaiotta G., Di Capua M., Coppola R., Aponte M.: Production of fermented chestnut purees by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, 158, 195-202.
- [4] Candy D.C.A., Van Ampting M.T.J., Oude Nijhuis M.M., Wopereis H., Butt A.M., Peroni D.G., Vandenplas Y., Fox A.T., Shah N., West Ch.E., Garssen J., Harthoorn L.F., Knol J., Michaelis L.J.: A synbiotic-containing amino-acid-based formula improves gut microbiota in non-IgE-mediated allergic infants. *Pediatr. Res.*, 2018, 83, 677-686.
- [5] Cassidy A., Brown J.E., Hawdon A., Faughnan M.S., King L.J., Millward J., Zimmer-Nechemias L., Wolfe B., Setchell K.D.R.: Nutrient physiology, metabolism, and nutrient-nutrient interactions factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J. Nutr.*, 2006, 136, 45-51.
- [6] Chavan M., Gat Y., Harmalkar M., Waghmare R.: Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2018, 91, 339-344.
- [7] Coda R., Di Cagno R., Gobbetti M., Rizzello C.G.: Sourdough lactic acid bacteria: Exploration of non-wheat cereal-based fermentation. *Food Microbiol.*, 2014, 37, 51-58.
- [8] Corona O., Randazzo W., Miceli A., Guarcello R., Francesca N., Erten H., Moschetti G., Settanni L.: Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2016, 66, 572-581.
- [9] Del Bo C., Riso P., Gardana C., Brusamolino A., Battezzati A., Ciappellano S.: Effect of two different sublingual dosages of vitamin B12 on cobalamin nutritional status in vegans and vegetarians with a marginal deficiency: A randomized controlled trial. *Clin. Nutr.*, 2018, 38(2), 575-583.
- [10] Dittfeld A., Gwizdek K., Jagielski P., Brzek J., Ziora K.: A Study on the relationship between orthorexia and vegetarianism using the BOT (Bratman Test for Orthorexia). *Psychiatr. Pol.*, 2017, 51, 1133-1144.
- [11] Dyett P.A., Sabaté J., Haddad E., Rajaram S., Shavlik D.: Vegan lifestyle behaviors: An exploration of congruence with health-related beliefs and assessed health indices. *Appetite*, 2013, 67, 119-124.
- [12] Ezekiel C.N., Abia W.A., Ogara I.M., Sulyok M., Warth B., Krksa R.: Fate of mycotoxins in two popular traditional cereal-based beverages (kunu-zaki and pito) from rural Nigeria. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2015, 60, 137-141.
- [13] Gambuś H., Mickowska B., Bartoń H., Augustyn G., Zięć G., Litwinik D., Szary-Sworst K., Berski W.: Health benefits of kvass manufactured from rye wholemeal bread. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, 2015, 4, 34-39.

- [14] Heperkan D., Daskaya-Dikmen C., Bayram B.: Evaluation of lactic acid bacterial strains of boza for their exopolysaccharide and enzyme production as a potential adjunct culture. *Process Biochem.*, 2014, 49, 1587-1594.
- [15] Holscher H.D.: Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 2017, 8, 172-184.
- [16] İçier F., Gündüz G.T., Yilmaz B., Memeli Z.: Changes on some quality characteristics of fermented soy milk beverage with added apple juice. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2015, 63 (1), 57-64.
- [17] Janssen M., Busch C., Rödiger M., Hamm U.: Motives of consumers following a vegan diet and their attitudes towards animal agriculture. *Appetite*, 2016, 105, 643-651.
- [18] Karovičová J., Kohajdová Z., Hybenová E.: Using of multivariate analysis for evaluation of lactic acid fermented cabbage juices. *Chem. Pap.*, 2002, 56 (4), 267-274
- [19] Kohajdova Z., Karovicova J.: Optimisation of method of fermentation of cabbage juice. *Czech J. Food Sci.*, 2004, 22, 39-50.
- [20] Langan R.C., Goodbred A.J.: Vitamin B12 deficiency: Recognition and management. *Am. Fam. Physician.*, 2017, 96(6), 384-389.
- [21] Lidums I., Karklina D., Kirse A.: Quality changes of naturally fermented kvass during production stages. 9<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology – Food for Consumer Well-being – Foodbalt, Jelgava 8-9.05.2014, pp. 188-191.
- [22] Luckow T., Delahunty C.: Which juice is “healthier”? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Qual. Prefer.*, 2004, 15, 751-759.
- [23] Marangon F., Tempesta T., Troiano S., Vecchiato D.: Toward a better understanding of market potentials for vegan food. A choice experiment for the analysis of breadsticks preferences. *Agric. Agric. Sci. Procedia*, 2016, 8, 158-166.
- [24] Markowiak P., Ślizewska K.: Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 2017, 9(9), #1021.
- [25] Marsh A.J., Hill C., Ross R.P., Cotter P.D.: Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, 38, 113-124.
- [26] Marsh K., Zeuschner C., Saunders A.: Health implications of a vegetarian diet: A review. *Am. J. Lifestyle Med.*, 2012, 6, 250-267.
- [27] Massantini R., Moscetti R., Frangipane M.T.: Progress in evaluating chestnuts quality: A review of recent developments. *Trends Food Sci. Technol.*, 2021, 113, 245-254.
- [28] McCarty M.F.: Vegan proteins may reduce risk of cancer, obesity, and cardiovascular disease by promoting increased glucagon activity. *Med. Hypotheses*, 1999, 53, 459-485.
- [29] North M., Kothe E., Klas A., Ling M.: How to define “Vegan”: An exploratory study of definition preferences among omnivores, vegetarians, and vegans. *Food Quality Preference*, 2021, 93, #104246.
- [30] Pandey K.R., Naik S.R., Vakil B.V.: Probiotics, prebiotics and synbiotics – a review. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52, 7577-7587.
- [31] Park K.Y., Jeong J.K.: Kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. In: *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics – Bioactive Foods in Health Promotion*. Eds. R.R. Watson, V.R. Preedy. Academic Press, London 2015, pp. 391-408.
- [32] Parvez S., Malik K.A., Ah Kang S., Kim H.Y.: Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.*, 2006, 100, 1171-1185.
- [33] Patel A.R.: Probiotic fruit and vegetable juices – recent advances and future perspective. *Int. Food Res. J.*, 2017, 24, 1850-1857.
- [34] Patel S., Goyal A.: The current trends and future perspectives of prebiotics research: A review. *3 Biotech.*, 2012, 2, 115-125.

- [35] Patra J.K., Singdevsachan S.K., Swain M.R.: Biochemical composition and antioxidant potential of fermented tropical fruits juices: Antioxidant potential of fermented fruits juices. *Agro. Food Ind. Hi. Tech.*, 2016, 27 (4), 4-9.
- [36] Peyer L.C., Zannini E., Arendt E.K.: Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends Food Sci. Technol.*, 2016, 54, 17-25.
- [37] Prado F.C., Parada J.L., Pandey A., Soccol C.R.: Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.*, 2008, 41, 111-123.
- [38] Rakic M., Vukasinovic M., Siler-Marinkovic S., Maksimovic M.: Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chem.*, 2007, 100, 599-602.
- [39] Ratnadewi A.A.I., Santoso A.B., Sulistyaningsih E., Handayani W.: Application of cassava peel and waste as raw materials for xylooligosaccharide production using endoxylanase from *Bacillus subtilis* of soil termite abdomen. *Procedia Chem.*, 2016, 18, 31-38.
- [40] Ray S., Bagyaraj D.J., Thilagar G., Tamang J.P.: Preparation of Chyang, an ethnic fermented beverage of the Himalayas, using different raw cereals. *J. Ethn. Foods*, 2016, 3, 297-299.
- [41] Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Mättö J., Mattila-Sandholm T.: Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, 2000, 84, 197-215.
- [42] Septembre-Malaterre A., Remize F., Poucheret P.: Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Res. Int.*, 2018, 104, 86-99.
- [43] Sharma V., Moreau R.A., Singh V.: Increasing the value of hominy feed as a coproduct by fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2008, 149, 145-153.
- [44] Siebert A.-K., Obeid R., Weder S., Awwad H.M., Sputtek A., Geisel J., Keller M.: Vitamin B-12-fortified toothpaste improves vitamin status in vegans: A 12-wk randomized placebo-controlled study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2017, 105 (3), 618-625.
- [45] Swain M.R., Anandharaj M., Ray R.C., Parveen Rani R.: Fermented fruits and vegetables of Asia: A potential source of probiotics. *Biotechnol. Res. Int.*, 2014, #250424.
- [46] Tabanelli G., Pasini F., Riciputi Y., Vannini L., Gozzi G., Balestra F., Caboni M.F., Gardini F., Montanari C.: Fermented nut-based vegan food: Characterization of a home made product and scale-up to an industrial pilot-scale production. *J. Food Sci.*, 2018, 83(3), 711-722.
- [47] Tamang J.P., Tamang N., Thapa S., Dewan S., Tamang B., Yonzan H., Rai A.K., Chettri R., Chakrabarty J., Kharel N.: Microorganisms and nutritional value of ethnic fermented foods and alcoholic beverages of North East India. *Indian J. Tradit. Knowl.*, 2012, 11, 7-25.
- [48] The retreat from meat: Why people in rich countries are eating more vegan food. [on line]. The Economist, 2018. Dostęp w Internecie [6.02.2021]: <https://www.economist.com/briefing/2018/10/13/why-people-in-rich-countries-are-eating-more-vegan-food>
- [49] Tuck C., Ly E., Bogatyrev A., Costetsou I., Gibson P., Barrett J., Muir J.: Fermentable short chain carbohydrate (FODMAP) content of common plant-based foods and processed foods suitable for vegetarian- and vegan-based eating patterns. *J. Hum. Nutr. Diet.*, 2018, 31, 422-435.
- [50] Vijaya Kumar B., Vijayendra S.V.N., Reddy O.V.S.: Trends in dairy and non-dairy probiotic products – a review. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52, 6112-6124.
- [51] Walter J.H.: Vitamin B12 deficiency and phenylketonuria. *Mol. Genet. Metab.*, 2011, 104, S52-S54.
- [52] Waters D.M., Mauch A., Coffey A., Arendt E.K., Zannini E.: Lactic acid bacteria as a cell factory for the delivery of functional biomolecules and ingredients in cereal-based beverages: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2015, 55, 503-520.
- [53] Wiffin M., Smith L., Antonio J., Johnstone J., Beasley L., Roberts J.: Effect of a short-term low fermentable oligosaccharide, disaccharide, monosaccharide and polyol (FODMAP) diet on exercise-related gastrointestinal symptoms. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, 2019, 16(1), #1.

- [54] Wilk M.: Soja źródłem cennych składników żywieniowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2017, 2 (11), 16-25.
- [55] Wilson B., Cox S.R., Whelan K.: Challenges of the low FODMAP diet for managing irritable bowel syndrome and approaches to their minimisation and mitigation. *Proc. Nutr. Soc.*, 2021, 80(1), 19-28.
- [56] Xiao Y., Zhang S., Tong H., Shi S.: Comprehensive evaluation of the role of soy and isoflavone supplementation in humans and animals over the past two decades. *Phyther Res.*, 2018, 32, 384-394.
- [57] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresour. Technol.*, 2006, 97, 1427-1430.

## FERMENTOWANA ŻYWNOŚĆ WEGAŃSKA

### S t r e s z c z e n i e

W ciągu ostatnich lat zaobserwowano wzrost świadomości konsumentów w zakresie zbilansowanego żywienia oraz profilaktyki zdrowotnej. Spowodowało to wzrost zainteresowania konsumentów żywnością funkcjonalną. Podstawowym rodzajem żywności funkcjonalnej są produkty zawierające szczepy probiotyczne i prebiotyki. Najczęściej spożywanym produktem probiotycznym jest klasyczny jogurt, ale coraz większego znaczenia nabierają fermentowane napoje mleczne i bezmleczne. Wzrost liczby i rodzajów napojów bezmlecznych na rynku spowodowany jest coraz częściej występującą nietolerancją laktozy wśród konsumentów. Ponadto w krajach rozwiniętych sukcesywnie zwiększa się liczba osób przechodzących na weganizm. Poszukiwanie odpowiednich zamienników mleka i przetworów mlecznych stało się ważnym kierunkiem badań naukowych i prac wdrożeniowych w przemyśle. Celem opracowania jest przegląd literatury dotyczący wyników badań i prac eksperymentalnych związanych z wytwarzaniem i właściwościami niemlecznych produktów probiotycznych, które można zakwalifikować do żywności wegańskiej. Nowa probiotyczna żywność w postaci napojów, jakie znajdują się już na rynku lub są jeszcze w fazie badań, produkowana jest z surowców takich, jak: warzywa, owoce, nasiona zbóż (owsa, gryki, orkisz, kukurydzy, komosy ryżowej, amarantusa), orzechy laskowe, kokosy, migdały, orzechy nerkowca, a także nasiona sezamu i konopi. Produkcja wyrobów dla wegan jest dużym wyzwaniem dla technologów, ponieważ dieta wegańska jest bardziej restrykcyjna od wegetariańskiej, stąd możliwości wykorzystania wielu surowców są ograniczone.

**Słowa kluczowe:** weganizm, żywność fermentowana, probiotyki, prebiotyki 

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 według stanu na dzień 30 września 2021 r.

### **Polskie akty prawne**

1. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 21 lipca 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt (Dz. U. 2021 r., poz. 1542).  
Obwieszczenie zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt. Ustawa określa:
  - zasady identyfikacji i rejestracji zwierząt,
  - zadania Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa, organów Inspekcji Weterynaryjnej oraz innych podmiotów w ramach utworzonego Systemu Identyfikacji i Rejestracji Zwierząt.
2. Obwieszczenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 sierpnia 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych zasad organizacji Inspekcji Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych (Dz. U. 2021 r., poz. 1624).  
Obwieszczenie zawiera jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 5 września 2002 r. w sprawie szczegółowych zasad organizacji Inspekcji Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych.  
Rozporządzenie określa, że w skład Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych wchodzą Główny Inspektor Inspekcji Jakości Handlowej Artyku-

łów Rolno-Spożywczych oraz wojewódzkie inspektoraty jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych. Reguluje również szczegółowo organizacje wojewódzkich inspektoratów.

### **Unijne akty prawne**

1. Rozporządzenie Delegowane Komisji (UE) 2021/1334 z dn. 27 maja 2021 r. zmieniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/787 w zakresie odniesień do nazw prawnych napojów spirytusowych lub do oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych w opisie, prezentacji i etykietowaniu innych napojów spirytusowych (Dz. U. L 2021 r., 289, s. 1).  
Wprowadzone w rozporządzeniu zmiany dotyczą szczegółowych wymagań oznaczeń na etykietkach napojów
2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2021/1408 z dn. 27 sierpnia 2021 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów alkaloidów tropanowych w niektórych środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. U. L 2021 r., 304, s. 1).  
Rozporządzenie ustanawia najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń, w tym alkaloidów tropanowych, w środkach spożywczych dla niemowląt i małych dzieci zawierających kukurydzę. Atropina jest mieszaniną racemiczną (-)-hioscyjaminy i (+)-hioscyjaminy. 

## TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI

**PROF. DR HAB. INŻ. ZBIGNIEW DUDA  
1929 - 2021**



Profesor dr hab. inż. Zbigniew Duda urodził się 19 lutego 1929 r. w Jarosławiu. Ukończył dwustopniowe studia w Wyższej Szkole Rolniczej w Poznaniu (1949 - 1953), gdzie uzyskał dyplom inżyniera rolnictwa oraz magistra inżyniera technologii rolnej. Jako młody magister odbył dwumiesięczny staż w zakładach mięsnych w Rawie Mazowieckiej. W latach 1955 - 1958 odbył studia doktoranckie w Moskiewskim Technologicznym Instytucie Przemysłu Mięsnego i Mleczarskiego, a zwieńczeniem jego pobytu w Moskwie było uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk technicznych. Stopień docenta (dr hab.) otrzymał w 1965 roku w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Tytuł profesora nadzwyczajnego został nadany Zbigniewowi Dudzie w 1982 r., a profesora zwyczajnego – w 1987 r.

W latach 1952 - 1970 Zbigniew Duda był zatrudniony początkowo w Katedrze Technologii Rolnej, a następnie w Katedrze Technologii Mięsa WSR w Poznaniu jako asystent, starszy asystent, adiunkt i docent. W roku akademickim 1969/1970 był dziekanem Wydziału Technologii Żywności WSR w Poznaniu.

Dwukrotnie, w latach 1964 - 1965 oraz 1966 - 1967, był stażystą, a następnie pracownikiem Instytutu Naukowo-Badawczego Przemysłu Mięsnego w Roskilde w Danii. W latach 1970 - 1975 pracował w Organizacji ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) w Rzymie.

W 1975 r. Profesor Duda podjął pracę w Akademii Rolniczej we Wrocławiu. W 1976 r. został kierownikiem Zakładu Technologii Surowców Zwierzęcych, a od 1982 r. – Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych i funkcję tę pełnił nieprzerwanie do 1997 r. Był członkiem Senatu uczelni (1991 - 1998), Senackiej Komisji Statu-

towej (1996 - 1998), Senackiej Komisji ds. Rozwoju Kadry Naukowej (1996 - 1998) i przewodniczącym Rektorskiej Komisji ds. Współpracy z Zagranicą (1993 - 1996).

Zainteresowania naukowe Profesora Dudy ukierunkowane były na zagadnienia związane z technologią mięsa, z uwzględnieniem najnowszych rozwiązań technologicznych. Pod jego kierunkiem w Katedrze prowadzone były badania, których przedmiotem była ocena surowców rzeźnych, ich przechowywanie, zwłaszcza w temperaturze bliskiej krioskopowej, a także spożywcze wykorzystanie mniej cennych ubocznych surowców rzeźnych. Inne prace dotyczyły kształtowania jakości przetworów mięsnych poprzez optymalizację składu recepturowego i parametrów procesowych produkcji oraz ochrony mięsa i przetworów mięsnych poprzez zastosowanie powłok biodegradowalnych i bioaktywnych.

Profesor Zbigniew Duda. opublikował blisko 400 pozycji wydawniczych, w tym 80 prac oryginalnych. Ponadto w jego dorobku naukowym znajdują się 3 patenty, ponad 340 recenzji: wydawniczych, doktorskich, habilitacyjnych, o nadanie tytułu naukowego profesora nadzwyczajnego i zwyczajnego, o granty KBN, o nadanie tytułu doktora *honoris causa* oraz sprawozdania z badań naukowych. Był promotorem 4 rozpraw doktorskich i ponad 130 prac magisterskich. Recenzował także 152 prace magisterskie.

Pod redakcją Profesora Dudy wydany został skrypt pt. „Przewodnik do ćwiczeń z technologii mięsa, drobiu i jaj”. Był autorem skryptu pt. „Procesy i zmiany poubojowe surowców rzeźnych” oraz współautorem podręcznika „Technologia mięsa” i monografii pod redakcją W. Pezackiego „Gospodarka mięsna w Polsce. Zarys dziejów”. Profesor był również członkiem Zespołu Redakcyjnego i wiodącym współautorem „Leksykonu nauki o żywności i żywieniu człowieka” oraz autorem „Polsko-angielskiego słownika terminów” (dział: technologia mięsa). W 2002 r. wydał „Angielsko-polski słownik terminologiczno-frazeologiczny nauki o mięsie i technologii mięsa”, a w 2005 r. ukazała się jego wersja polsko-angielska. Pozycje te do dzisiaj są swoistym kanonem niezbędnym przy specjalistycznym tłumaczeniu.

Dzięki ogromnej, rzetelnej wiedzy teoretycznej i praktycznej, jak również umiejętności twórczego rozwiązywania problemów Prof. Zbigniew Duda był wybitnym uczonym o ugruntowanej pozycji w swojej dziedzinie, zarówno w Polsce, jak i za granicą. Wymiernym dowodem Jego pozycji w świecie była praca w Organizacji ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) w Rzymie (1970 - 1975) na stanowisku eksperta ds. technologii przetwarzania surowców pochodzenia zwierzęcego. W późniejszych latach był konsultantem FAO w: byłej Gujanie Brytyjskiej (1980), Afganistanie (1983), Bangladeszu (1987), Jamajce (1989) i Nepalu (1989). Podczas pobytu w USA prowadził wykłady w Kansas State University oraz Connecticut State University. Trzykrotnie, w latach 1992, 1994 i 1999, w Brukseli uczestniczył w międzynarodowym zespole ekspertów oceniających projekty badawcze finansowane przez UE. Był również dele-

gatem Rektora AR we Wrocławiu do Alliance of University for Democracy (1994 - 1999) i czynnie uczestniczył w konferencjach wymienionej organizacji.

W 1993 r. Profesor Duda został włączony w poczet członków zagranicznych Norweskiej Akademii Nauk i Literatury (5. Polak wyróżniony członkostwem). Był członkiem American Meat Science Association. Na polskim forum Profesor był członkiem Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN (od 1978), Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (od 1990), a w latach 1990 - 1997 – Prezesem Wrocławskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, przewodniczącym Rady Naukowej Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszcowego w Warszawie (1985 - 1990). Ponadto był członkiem rad programowych czasopism: Gospodarka Mięsna (od 1983), Przemysł Spożywczy (1991 - 1999), Żywność. Nauka. Technologia. Jakość (od 1997), Polish Journal of Food Science and Nutrition i Medycyny Weterynaryjnej (od 2004), Rady Naukowo-Technicznej przy Ministerze Rolnictwa, Leśnictwa i Gospodarki Żywnościowej (1982 - 1989). Od roku 1992 Profesor był członkiem Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego, w którym pełnił funkcję zastępcy przewodniczącego Wydziału VII i członka zarządu WNT. Prof. Duda był także członkiem honorowym Komitetu Nauk o Żywności PAN.

Profesor Zbigniew Duda był perfekcyjnym nauczycielem akademickim i wykładowcą wielu pokoleń pracowników naukowych oraz studentów. Od swoich wykładowców wymagał wiedzy naukowej, kompetencji i umiejętności laboratoryjnych, ale jednocześnie zapewniał swobodę myślenia i kreowania kierunków badań. Zabiegał, aby każdy, kto obronił doktorat, wyjechał na staż zagraniczny. Wiedział bowiem, jakie znaczenie mają dla rozwoju młodego naukowca jego doświadczenia zdobyte w zagranicznych laboratoriach i kontakty międzynarodowe. Wśród osób, które wspierał i promował znaleźli się późniejsi profesorowie, m.in. Jan Mielnik, Zbigniew Pietrasik, Andrzej Jarmoluk, Józefa Chrzanowska, Tadeusz Trziszka, Tadeusz Szmańko, Wiesław Kopeć, Agnieszka Kita i Anna Pęksa.

Wykłady dla studentów przygotowywał niezwykle starannie. Uważał, że są to autorskie opracowania monograficzne, w ramach których prezentował wyniki najnowszych badań i doniesień ze światowej literatury. Wykłady wprowadzały do prawdziwego świata nauki. Jego studenci dostawali wiedzę, jakiej w Polsce jeszcze nie było i to na kilka lat przed jej ujawnieniem się w polskich publikacjach.

Profesor Duda był nie tylko erudytą, ale dbał także o piękną polszczyznę w tekstuach naukowych swoich i współpracowników.

Profesor Zbigniew Duda został odznaczony: Krzyżem Kawalerskim i Oficerskim Orderu Odrodzenia Polski oraz wyróżniony Medalem im. M. Oczapowskiego – najwyższym wyróżnieniem Wydziału VII PAN, Medalem Komisji Edukacji Narodowej, medalem „Zasłużony dla Akademii Rolniczej” i jeszcze kilkoma innymi odznaczeniami. Otrzymał nagrody stopnia I (2) i II (2) Ministra Szkolnictwa Wyższego oraz 28

nagród indywidualnych i zespołowych Rektora AR we Wrocławiu. Był jedynym Polakiem, laureatem International Award of American Meat Science Association (1997).

Profesor Zbigniew Duda zmarł 29 marca 2021 r. i został pochowany na cmentarzu św. Wawrzyńca przy ul. Bujwida we Wrocławiu.

*Dr hab. inż., prof. UPWr Maciej Oziembłowski  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*W tekście wykorzystano materiały pochodzące z „Dziejów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu” pod redakcją A. Koteckiego, T. Szulca, J. Tyszkiewicza. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2011. ┌*

**XLV SESJA NAUKOWA KOMITETU NAUK  
O ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU PAN**  
**„Żywność w strategii Zielonego Ładu”**

Gdańsk, 1 - 2 lipca 2021 r.

W dniach 1 - 2 lipca 2021 roku w Gdańsku odbyła się XLV Sesja Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu Polskiej Akademii Nauk (KNoŻŻ PAN), zorganizowana przy współudziale Gdańskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Technologów Żywości (PTTŻ) i Katedry Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywości Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej (KChTiBŻ WCh PG). Sesje KNoŻŻ PAN to największe krajowe przedsięwzięcia organizacyjne realizowane w cyklu dwuletnim, mające na celu podsumowanie najnowszych dokonań naukowych i technicznych w zakresie technologii żywności i żywienia człowieka. Od wielu lat sesje te gromadzą pracowników jednostek naukowych i przedstawicieli środowisk gospodarczych, umożliwiając wymianę poglądów i doświadczeń oraz nawiązanie współpracy.

Przełom lat 2020 i 2021 to szczególny okres dla nauk o żywności i żywieniu z co najmniej trzech powodów. Po pierwsze, pandemia COVID-19 skloniła ludzi do refleksji nad zagrożeniami w produkcji, dystrybucji i zabezpieczaniu dostępności żywności. Równocześnie uwypuklone zostały możliwości żywieniowego wspomagania ludzkiego układu odpornościowego, a tym samym udział żywności w profilaktyce i leczeniu infekcji. Po drugie, Pokojowa Nagroda Nobla przyznana Światowemu Programowi Żywieniowemu stanowi potwierdzenie strategicznego czynnika warunkującego międzynarodowy pokój, jakim jest dostępność żywności i jak manipulowanie głodem przyczynia się do wojen. W końcu trzeci powód, to ogłoszenie strategii określonej mianem Europejskiego Zielonego Ładu (*European Green Deal*), która ma wyznaczać kierunki rozwoju gospodarki do 2030 roku. Działania związane z żywnością w strategii „od pola do stołu” odgrywają w niej centralną rolę jako gwarant zrównoważonego rozwoju, a bezpieczeństwo żywieniowe i zdrowie konsumenta stanowią przedmiot pierwszoplanowych działań. W taką właśnie tematykę wpisała się XLV Sesja KNoŻŻ PAN.

W skład Komitetu Organizacyjnego wchodzili pracownicy KChTiBŻ WCh PG: Hanna Staroszczyk – przewodnicząca, Edyta Malinowska-Pańczyk – sekretarz, Izabela

Sinkiewicz – sekretarz, Paweł Filipkowski – skarbnik oraz członkowie: Agnieszka Bartoszek, Izabela Kos-Mikołajczyk, Barbara Kusznierewicz, Szymon Mania, Dorota Martysiak-Żurowska, Karol Parchem, Agata Sommer i Robert Tylingo.

Merytoryczny nadzór nad obradami pełnił Komitet Naukowy w składzie: Agnieszka Bartoszek (PG), Małgorzata Grembecka (Gdański Uniwersytet Medyczny), Agata Kot-Wasik (PG), Barbara Kusznierewicz (PG), Adam Macierzanka (PG), Edyta Malinowska-Pańczyk (PG), Dorota Martysiak-Żurowska (PG), Zdzisław E. Sikorski (PG), Hanna Staroszczyk (PG), Piotr Szweda (PG), Maria Śmiechowska (Uniwersytet Morski w Gdyni), Robert Tylingo (PG), Aleksandra Wilczyńska (Uniwersytet Morski w Gdyni).

W XLV Sesji udział wzięły 183 osoby, w tym 116 osób w sposób stacjonarny, a 67 – zdalnie. Uczestnicy to przedstawiciele 22 uczelni wyższych i instytutów nauko-wo-badawczych, 1 instytucji administracji państwowej, 7 podmiotów gospodarczych oraz 2 organizacji społecznych. Najliczniej reprezentowane były Uniwersytety Przyrodnicze w Lublinie i Poznaniu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz Politechnika Gdańska.

Sesję Otwarcia poprowadziła Hanna Staroszczyk, kierownik KChTiBŻ WCh PG, która przywitała wszystkich uczestników konferencji, a jako pierwszy głos zabrał Prorektor PG ds. nauki Sławomir Milewski, wieloletni Dziekan WCh PG. Po Prorektorze wystąpiła obecna Dziekan WCh PG Agata Kot-Wasik oraz kolejno Przewodnicząca KNoŻŻ PAN – Dorota Witrowa-Rajchert i Prezes PTTŻ – Agnieszka Kita. Następnie Hanna Staroszczyk w imieniu społeczności akademickiej WCh PG, w tym także koleżanek i kolegów z KChTiBŻ, złożyła życzenia prof. Zdzisławowi Sikorskiemu z okazji Jubileuszu 90-lecia. Podkreśliła szczególną aktywność Jubilata jako inicjatora, redaktora i autora licznych książek z zakresu chemii i technologii żywności, szczególnie tych wydawanych przez prestiżowe amerykańskie wydawnictwo CRC Press. Do życzeń dołączyli się byli współpracownicy zespołu Pana Profesora oraz przedstawiciele różnych jednostek naukowych.

Wykład inauguracyjny pt. „Wyzwania dla sektora produkcji i zastosowania opakowań do żywności w kontekście nowych przepisów związanych z Zielonym Ładem” wygłosił Artur Bartkowiak z Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Podczas Sesji zaprezentowano również 5 wykładów plenarnych:

- Nutrigenomika, jak zmienia się oblicze badań o żywieniu i żywności – Agnieszka Bartoszek (Politechnika Gdańska);
- Związki lotne żywności w ocenie jej autentyczności i jakości – Henryk Jeleń (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu);
- Strategia Europejskiego Zielonego Ładu a produkcja wysokiej jakości żywności pochodzenia zwierzęcego – Jarosław Olaf Horbańczuk (Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt, PAN);

- Jakość i bezpieczeństwo żywności utrwalanej wysokim ciśnieniem hydrostatycznym – Barbara Sokołowska (Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. W. Dąbrowskiego w Warszawie);
- Skala strat i marnotrawstwa żywności w Polsce. Wybrane wyniki projektu PROM – Danuta Kołożyn-Krajewska (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie).

W ramach tematu przewodniego Sesji – „Żywność w strategii Zielonego Ładu” – zaprezentowano także 41 komunikatów ustnych, w tym 21 wygłoszonych on-line, oraz 65 prezentacji posterowych, w tym 26 zaprezentowanych on-line, w sześciu obszarach tematycznych: „Żywność w chemoprewencji niezakaźnych chorób”, „Trendy w produkcji żywności”, „Bezpieczeństwo i kontrola jakości żywności”, „Żywność funkcjonalna”, „Trendy w produkcji i modyfikacji żywności” oraz „Fizykochemiczne i biochemiczne właściwości składników żywności”.

Wśród referatów i doniesień przedstawionych w czasie Sesji były zarówno takie, których poziom spełniał standardy europejskie, jak i nieliczne, które nie powinny zostać dopuszczone do wygłoszenia. Ta uwaga dotyczy merytorycznej treści prac i w wielu przypadkach sposobu referowania oraz kontaktu z audytorium.

W ramach Sesji wydano numer specjalny czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, w którym opublikowanych zostało 13 artykułów.

Komisje oceniające komunikaty ustne prezentowane w ramach Sesji przyznały trzy nagrody główne. Nagrodzone osoby to:

- Magdalena Karwacka (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie): „Wybrane właściwości liofilizowanych przekąsek warzywnych wytworzonych z wykorzystaniem pełnowartościowych odpadów” – voucher od czasopisma Polish Journal of Food and Nutrition Science;
  - Monika Pliszka (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie): „Bioaktywne peptydy z białek owsa w profilaktyce chorób cywilizacyjnych” – voucher od czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*;
  - Maciej Świdalski (Uniwersytet Morski w Gdyni): „Ocena wybranych właściwości fizykochemicznych i sorpcyjnych w handlowych odżywkach białkowych – voucher od czasopisma Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.
- Za najlepsze komunikaty ustne dodatkowo nagrody otrzymali:
- Monika Pliszka (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie): „Bioaktywne peptydy z białek owsa w profilaktyce chorób cywilizacyjnych”, sekcja – Żywność w chemoprewencji niezakaźnych chorób chronicznych;
  - Małgorzata Dąbrowska (PG): „Charakterystyka chemiczna keratyny izolowanej z odpadów przemysłu żywnościowego”, sekcja – Trendy w produkcji i modyfikacji żywności;

- Małgorzata Grembecka (Gdański Uniwersytet Medyczny): „Suplementy diety – korzyści vs. zagrożenia”, sekcja – Bezpieczeństwo i kontrola jakości żywności;
- Małgorzata Sikora (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie): „Wpływ wodnych ekstraktów z otrębów pszennych na właściwości prozdrowotne oraz sensoryczne rozdrobnionej przechowywanej sałaty lodowej”, sekcja – Żywność funkcjonalna;
- Katarzyna Walkowiak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): „Analiza rozkładu mas cząsteczkowych i parametrów przewodnictwa elektrycznego fizycznie modyfikowanej skrobi ziemniaczanej”, sekcja – Fizykochemiczne i biochemiczne właściwości składników żywności.

Za najlepszą prezentację posterową nagrody otrzymali:

- Kamila Rybczyńska-Tkaczyk (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie): „Ocena właściwości przeciw mikrobiologicznych olejków eterycznych z liści lubczyku (*Levisticum officinale* Koch.) elicytowanych kwasem jasmonowym i ekstraktem drożdżowym”;
- Joanna Kobus-Cisowska (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): „Charakterystyka wybranych grzybów jadalnych pod względem właściwości funkcjonalnych”;
- Marika Konderak (PG): „Charakterystyka różnych części morfologicznych szarłata prostego (*Amaranthus hybridus* L.) pod kątem zawartości substancji bioaktywnych”;
- Paweł Filipkowski (PG): „Analiza genotoksyczności mikroplastików z wykorzystaniem techniki testu kometowego”;
- Łukasz Woźniak (Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego PIB): „Bioaktywne składniki wosków kutykularnych jabłka i ich biosynteza podczas wzrostu owoców i liści”.

Sesję sponsorowały następujące podmioty gospodarcze: ANCHEM Sp. z o.o. Sp. K., Krajowa Unia Producentów Soków (KUPS), ARGENTA Sp. z o.o., Iglolex S.A., MIX S.A., Piekarnia - Cukiernia „Pellowski”, Stary Browar Kościerzyna Sp. z o.o. oraz Zakłady Mięsne Nowak Sp. J.

Nieformalną częścią Sesji było spotkanie towarzyskie w formie bankietu, które odbyło się w Restauracji Filharmonia.

W podsumowaniu Sesji, prof. Dorota Witrowa-Rajchert ogłosiła, że organizatorem XLVI Sesji KNoŻŻ PAN będzie Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie.

Hanna Staroszczyk

Kierownik Katedry Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności  
Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

## TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 31 Nr 3

wrzesień 2021

---

#### WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE W ROKU 2021

**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.**

#### Październik

- 6 - 7 BARCELONA, Spain = 25<sup>th</sup> 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: foodtechnology@brainstormingmeetings.com; tel. +44 2033180199

#### Listopad

- 21 - 23 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

---

**WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE  
W ROKU 2022**

**Kwiecień**

- 6 – 8 PIEŠŤANY, Slovakia = XIX Scientific Conference with International Participation “Food safety and control”  
Organizatorzy: 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; Slovak Society for Agriculture, Forestry, Food and Veterinary Sciences at SAS, Food Chamber of Slovakia, Slovak Academy of Agricultural Sciences  
Informacje: [www.bezpecnostpotravin.sk](http://www.bezpecnostpotravin.sk), [www.potravinarstvo.sk](http://www.potravinarstvo.sk)  
Kontakt: prof. ing. Jozef Golian; e-mail: [Jozef.Golian@uniag.sk](mailto:Jozef.Golian@uniag.sk)  
tel. +421037 6414 325
- 25 – 27 KIRY k. ZAKOPANEGO = VI 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. Katarzyna Neffe-Skocińska; tel. (22) 593-70-67  
e-mail: [sympozjum\\_bezpieczenstwo@sggw.edu.pl](mailto:sympozjum_bezpieczenstwo@sggw.edu.pl)
- 28 – 29 KIRY k. ZAKOPANEGO = Krokusowe XII Sympozjum Naukowe nt. “Probiotyki i prebiotyki w żywności”  
Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka SGGW w Warszawie, Zarząd Główny PTTŻ, KNoŻiŻ PAN  
Kontakt: dr inż. Barbara Sionek; tel. (22) 593-70-67  
e-mail: [sympozjum\\_probiotyki@sggw.edu.pl](mailto:sympozjum_probiotyki@sggw.edu.pl)

**Maj**

- 18 – 20 ŠTRBSKÉ PLESO, Slovakia = Hygiena Alimentorum XLII International Scientific Conference “Health safety and quality of poultry, fishery and game products – Current problems and trends”  
Organizatorzy: Department of Food Hygiene, Technology and Safety of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice; Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic; State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic; EFSA National Focal Point on Technical and Scientific Matters; Slovak Poultry and Eggs 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

prof. Jozef Nagy tel. +421 915-984-010, e-mail: jozef.nagy@uvlf.sk

- 19 - 20 POZNAŃ = XXVI Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt. „Żywność dzisiaj – lokalna czy globalna? Tradycyjna czy innowacyjna?”**  
Organizatorzy: Oddział Wielkopolski PTTŻ, Sekcja Młodej Kadry Naukowej  
Informacje: <https://smkn2022.pl/>  
Kontakt: dr inż. Monika Przeor  
e-mail: smkn2022@up.poznan.pl  
Tel. (061) 846-63-30, (061) 848-73-50

#### Czerwiec

- 9 - 10 KRAKÓW = XI Krajowa i III Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Jakość przyszłości, przyszłość jakości”**  
Organizator: Katedra Zarządzania Jakością Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie  
Kontakt: dr hab. Joanna Dziadkowiec, prof. UEK  
e-mail: qffq@uek.krakow.pl, balonu@uek.krakow.pl  
Tel. (012) 293-55-83, (012) 293-55-89

- 9 - 10 POZNAŃ = III Wielkopolska Konferencja Nauka Gospodarce pt. „Partnerstwo nauki i przemysłu źródłem rozwoju”**  
Organizatorzy: Oddział Wielkopolski PTTŻ, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu  
Informacje: <http://pttzow.up.poznan.pl/konferencja>  
Kontakt: NaukaGospodarce@up.poznan.pl; tel. (61) 848-72-97

#### Lipiec

- 4 - 8 KRAKÓW = Konferencja Europejskiego Stowarzyszenia Badaczy Ziemiaka 21<sup>st</sup> 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

Październik

5 - 6      Zurich, Switzerland = 26<sup>th</sup> International Conference on Food Technology and Processing  
Organizator: Conference Series LLC Ltd  
Informacje: <https://foodtechnology.insightconferences.com>  
Kontakt: foodtechnology@brainstormingmeetings.com; tel. +44 2033180199

**26 - 27 KRAKÓW = XIV Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Wiedza – Gospodarka – Społeczeństwo” (online)**  
Organizatorzy: Kolegium Nauk o Zarządzaniu i Jakości Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, Fundacja Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie  
Informacje: <https://cmq.uek.krakow.pl/>  
Kontakt: cmq@uek.krakow.pl ; tel. (12) 293-55-99

**CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI**

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew.**  
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](mailto:redakcja@pttz.org)

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji  
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

<b>PREZES / ODDZIAŁ</b>	<b>ADRES</b>
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 Gdańsk	UM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: (58) 558-62-81; e-mail: a.wilczynska@wpit.ugm.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: rrwitcza@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
<b>SEKCJE</b>	
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 Tłuszców	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-Tomeczak 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