

ŻYWNOSĆ

Nauka
Technologia
Jakość

FOOD

Science
Technology
Quality



Kwartalnik
Nr 1
Kraków 2023

Nr 1 (134); Rok 30
ISSN 2451-0769
e-ISSN 2451-077



ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTŻ – kwartalnik

Nr 1 (134)

Kraków 2023

Rok 30

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
KAMILA GODERSKA, GRZEGORZ NIKRANDT: Rola żywienia i substancji bioaktywnych pochodzenia roślinnego w prewencji chorób nowotworowych	5
BOHDAN ACHREM-ACHREMOWICZ: Znaczenie właściwego odżywiania w zapobieganiu i leczeniu sarkopenii u osób starszych	19
ANNA SADOWSKA-ROCIK, MAGDALENA SURMA, KONRAD STANASZEK: Analiza zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w serach wędzonych.....	27
MICHAŁ MIŁEK, MONIKA KLOC, MAŁGORZATA DŻUGAN: Zawartość polifenoli i kofeiny w fusach uzyskanych przy użyciu różnych domowych metod parzenia kawy	40
AGNIESZKA RUDZKA, ONDŘEJ PATLOKA, MAGDALENA PŁECHA, TOMASZ KRÓLIKOWSKI, MICHAŁ OCZKOWSKI, MAREK ZBOROWSKI, DANUTA KOŁOŻYŃSKA, DOROTA ZIELIŃSKA: Zmiany w mikrobiomie człowieka oraz w symulatorze ludzkiego ekosystemu drobnoustrojów jelitowych (Shime®) w odpowiedzi na dietę i suplementację probiotykami	53
PATRYCJA SKWAREK, MAŁGORZATA KARWOWSKA: Wytłoki pomidorowe jako innowacyjny składnik kielbas surowo dojrzewających o obniżonej zawartości azotanu(III) sodu...73	
ROBERT GAJDA: Związek między brakiem bezpieczeństwa żywnościowego o zmiennej przyczynie, aktywnością fizyczną i wybranymi sytuacjami zdrowotnymi wśród osób starszych w polsce: badanie przekrojowe	86
LUCYNA PACHOCKA, MAŁGORZATA MĘKUS: Analiza porównawcza sposobu żywienia kobiet w różnym wieku z uwzględnieniem spożycia produktów mlecznych będących źródłem probiotyków – badania pilotażowe	106
EWELINA SIDOR, KAROLINA TRYBULEC, MONIKA TOMCZYK, MAŁGORZATA DŻUGAN: Spirulina (<i>Arthrospira platensis</i>) jako składnik napojów funkcjonalnych	118
AGNIESZKA RYZNAR-LUTY, KRZYSZTOF LUTOSŁAWSKI: Ocena fizykochemiczna i sensoryczna soku pomarańczowego wzbogaconego sokiem z rokitnika lub pigwy	132
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	144
Z żalobnej karty: Wspomnienie o prof. dr hab. Piotrze Koniecznym.....	149
Technolog Żywności	155

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 1 (134)

Kraków 2023

Rok 30

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Lesław Juszcak; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl; tel. 12 662-47-78

Zastępca redaktora naczelnego: prof. dr hab. inż. Mariusz Witczak

Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): e-mail: redakcja@pttz.org

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

Redaktor językowy (język polski): dr hab. Anna Piechnik, prof. UJ

Redaktor statystyczny: prof. dr hab. Mariusz Witczak

Stali współpracownicy: dr Grażyna Morkis (Kraków)

Rada Naukowa: prof. dr hab. Tadeusz Sikora (*przewodniczący*), prof. dr hab. Grażyna Bortnowska, prof. dr hab. Jacek Domagała, prof. dr hab. Jozef Golian (Słowacja), prof. dr hab. Anna Gramza-Michałowska, prof. dr hab. Waldemar Gustaw, prof. dr hab. Grażyna Jaworska, prof. dr hab. Henryk Jeleń, prof. dr hab. Mirosława Kačániová (Słowacja), prof. dr hab. Joanna Kawa-Rygielska, prof. dr hab. Agnieszka Kita, prof. dr hab. Elżbieta Klewicka, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska, prof. dr hab. Jolanta Król, prof. dr hab. Katarzyna Majewska, prof. dr hab. Stanisław Mleko, prof. dr hab. Mariusz Piskuła, prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, prof. dr hab. Dorota Żyżelewicz.

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

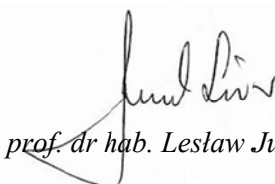
przekazujemy Państwu nr 1(134) czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, w którym publikujemy artykuły naukowe o zróżnicowanej tematyce z zakresu nauk o żywności i żywieniu.

Zapraszamy również do lektury tzw. stałych działów, w których zamieściliśmy m.in. informacje o wybranych konferencjach współorganizowanych przez Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, oraz zmianach w prawie żywnościowym.

Zapraszamy do odwiedzania naszej strony internetowej: <http://wydawnictwo.pttz.org> oraz strony Zarządu Głównego PTTŻ: <https://pttz.org/pl>

Kraków, marzec 2023 r.

Redaktor Naczelny



prof. dr hab. Lesław Juszcak

Publikacja dofinansowana z projektu „Rozwój dobrych praktyk wydawniczych i edytorskich oraz digitalizacja publikacji naukowych wydawanych w czasopiśmie Żywność. Nauka. Technologia. Jakość w latach 2021-2023” - zadanie finansowane w ramach umowy RCN/SN/0195/2021/1 ze środków Ministra Edukacji i Nauki w ramach programu „Rozwój czasopism naukowych”.



POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI



Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Oddział Małopolski,
Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona
Kołłątaja w Krakowie

zapraszają na:

XV Ogólnopolska Konferencja Naukowa
z cyklu
„Żywność XXI wieku”

„Żywność jako wyzwanie dla nauki i przemysłu”

21 - 22 września 2023 r. KRAKÓW

Zgłoszenia: https://wtz.urk.edu.pl/konferencja_zywnosc_XXI_wieku.html

Kontakt: dr hab. inż. prof. URK Dorota Gałkowska, tel. (12) 662 47 77

e-mail: zywnoscxxi@urk.edu.pl; <https://pttzm.org/>

KAMILA GODERSKA, GRZEGORZ NIKRANDT

ROLA ŻYWIENIA I SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH POCHODZENIA ROŚLINNEGO W PREWENCJI CHOROÓB NOWOTWOROWYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Nowotwory stanowią jedną z głównych przyczyn śmiertelności na świecie. Kancerogeneza jest wieloetapowym i złożonym procesem, który może być częściowo odwracalny. W procesie nowotworzenia zaburzeniu ulegają liczne szlaki metaboliczne związane z prawidłowym wzrostem komórek i ich podziałem. Istotną rolę w prewencji nowotworów pełni styl życia charakteryzujący się utrzymywaniem prawidłowej masy ciała, odpowiednim poziomem aktywności fizycznej oraz zwiększonym spożyciem produktów żywnościowych wykazujących działanie przeciwnowotworowe.

Wyniki i wnioski. W pracy zaprezentowano najnowsze doniesienia literaturowe dotyczące patogenezy nowotworów oraz wpływu sposobu żywienia na ryzyko ich wystąpienia. Ponadto omówiono znane modele kancerogenezy i ich wpływ na rozwój wiedzy z zakresu onkologii. Przedstawiono również obecne rekomendacje dotyczące żywienia w prewencji nowotworów, opracowane przez American Cancer Research Fund we współpracy z American Institute for Cancer Research. Celem pracy jest zaprezentowanie również roli wybranych składników bioaktywnych pochodzenia roślinnego w prewencji nowotworów. W pracy przedstawiono podstawowe informacje dotyczące kancerogenezy i mechanizmów działania pokarmowych antykancerogenów. Wymieniono poszczególne grupy związków bioaktywnych wykazujących działanie przeciwnowotworowe: błonnik pokarmowy, związki fenolowe, fitoestrogeny flawonoidowe (zaliczane do związków fenolowych) i nieflawonoidowe, betalainy, glikozynolany, fityniany i karotenoidy. Dokonano próby usystematyzowania wiedzy dotyczącej właściwości przeciwnowotworowej tych związków. Poprzez zmianę sposobu odżywiania należy rozumieć zwiększenie podaży składników bioaktywnych pochodzenia roślinnego, które poprzez różne mechanizmy działania posiadają zdolność do hamowania poszczególnych faz nowotworzenia oraz zmniejszenie podaży potencjalnych kancerogenów.

Słowa kluczowe: nowotwory, prewencja, kancerogeneza, składniki bioaktywne, wzory żywienia, otyłość

Wprowadzenie

Nowotwory stanowią drugą pod względem częstości przyczynę śmierci na świecie. Szacuje się, że do 2060 roku liczba zgonów z powodu chorób nowotworowych

Dr hab. inż. K. Goderska ORCID: 0000-0003-4724-075X, Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, mgr. G. Nikrandt, Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań; Kontakt: kamila.goderska@up.poznan.pl

wzrośnie ponad dwukrotnie [27]. W roku 2020 w Stanach Zjednoczonych śmiertelność z powodu nowotworów wynosiła 18 %, będąc tym samym drugą pod względem częstości przyczyną śmierci w tym kraju [35]. W związku z tym, w ostatnich latach obserwuje się w literaturze naukowej rosnące zainteresowanie prewencją i leczeniem nowotworów. Szczególną uwagę zwraca się na możliwość zmniejszenia narażenia na modyfikowalne czynniki ryzyka, w tym modyfikację stylu życia poprzez zmianę sposobu odżywiania i zwiększenie podaży składników bioaktywnych o działaniu przeciwnowotworowym [27, 45].

Patogeneza nowotworów

Komórka stanowi podstawową jednostkę budulcową i funkcjonalną żywych organizmów. Wzrost i podział komórek podlega ścisłej regulacji, a podstawowym mechanizmem fizjologicznym zapewniającym kontrolę nad tymi procesami jest programowana śmierć komórki (apoptoza). Dysregulacja procesów apoptozy skutkuje utratą kontroli nad podziałem komórkowym i obejmuje następujące mechanizmy:

- zaburzenia wydzielania białek o działaniu proapoptotycznym i antyapoptotycznym,
- obniżenie aktywności kaspaz odpowiedzialnych za degradację białek komórkowych i potranslacyjną modyfikację cytokin,
- zaburzenia ekspresji i transdukcji sygnału receptorów śmierci.

Wszystkie te mechanizmy mogą prowadzić do niekontrolowanego podziału komórek i rozwoju tkanki nowotworowej [44]. Proces rozwoju nowotworu nazywany jest kancerogenezą i jest zależny m.in. od stopnia narażenia na czynniki ryzyka. W oparciu o ich biologiczną naturę, modyfikowalność i użycie w literaturze, można wyróżnić:

- niemodyfikowalny wewnętrzny czynnik ryzyka związany z występowaniem losowych mutacji w procesie replikacji kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA),
- modyfikowalne czynniki egzogenne (np. narażenie na promieniowanie, kancerogeny, wirusy, ksenobiotyki, starzenie biologiczne), styl życia (np. palenie papierosów, terapie hormonalne, stopień aktywności fizycznej, utrzymywanie nieprawidłowej masy ciała, sposób odżywiania),
- częściowo modyfikowalne czynniki endogenne związane z określonym fenotypem (poziom hormonów, aktywność enzymów wątrobowych, czynność układu immunologicznego, sprawność systemów naprawczych DNA, występowanie określonych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu) [46].

Wysokie narażenie na czynniki modyfikowalne związane jest ze zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu (RFT). Nadmierna ilość RFT indukuje hipermetylację histonów, w wyniku czego ekspresja genów odpowiedzialnych za inhibicję tumorogenezy ulega obniżeniu. Ponadto indukcji ulegają ścieżki metaboliczne promujące proliferację i progresję nowotworu [18].

Narażenie na czynniki ryzyka zwiększa szansę zainicjowania na poziomie molekularnym mechanizmu kancerogenezy, prowadzącego do niekontrolowanych podziałów komórkowych, zaburzeń homeostazy na poziomie tkankowym i zmiany fenotypu nowo utworzonej tkanki nowotworowej. Klasyczna koncepcja kancerogenezy zakłada, że jest to proces o charakterze progresywnym, trwający od kilkunastu dni do kilkudziesięciu lat. Teoria ta wyróżnia występowanie trzech podstawowych etapów rozwoju nowotworów: inicjacji, promocji i progresji. Komórki nowotworowe podlegają ciągłej ewolucji, w wyniku której w początkowych etapach rozwoju obserwuje się pośrednie fenotypy tkanki nowotworowej, aż do wystąpienia fenotypu inwazyjnego, zdolnego do przerzutowania. Etap inicjacji charakteryzuje się wystąpieniem uszkodzeń DNA w komórkach zdrowych wskutek ich kontaktu z czynnikiem kancerogennym [39]. Wykazano, że narażenie na kancerogeny zaburza procesy naprawy DNA, a ponadto wywołuje stres oksydacyjny, przewlekły stan zapalny, immunosupresję oraz unieśmiertelnienie komórek. Do czynników kancerogennych zalicza się czynniki fizyczne (np. promieniowanie ultrafioletowe i promieniowanie X) i chemiczne (np. obecne w żywności nitrozoaminy, aflatoksyny i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne). Ponadto International Agency for Research on Cancer zalicza do kancerogenów również niektóre patogeny, m.in. bakterie *Helicobacter pylori*, wirusowe zapalenie wątroby typu B i C oraz wirus brodawczaka ludzkiego [13].

W przypadku, gdy systemy naprawcze DNA zawiodą, proliferacja komórek inicjatorowych skutkuje powstaniem pokoleń z mutacją. Dalsze narażenie na czynniki ryzyka (promotory) może skutkować etapem promocji, w którym następuje selektywny wzrost klonalny komórek inicjatorowych. W etapie tym dochodzi do modulacji ekspresji genów zaangażowanych we wzrost komórek i ich apoptozę [39]. Podczas gdy w etapach inicjacji i promocji w tkance nowotworowej obserwuje się przewagę komórek zdrowych, stopniowe nagromadzenie zmian epigenetycznych oraz wzrost hipoksji i kwasicy w środowisku powoduje adaptację komórek zmutowanych, skutkując fazą progresji. W fazie progresji następuje gwałtowny spadek liczby komórek zdrowych w wyniku postępującej nekrozy i apoptozy, z jednoczesnym intensywnym namnażaniem zmutowanych komórek o fenotypie pozwalającym na przeżywalność w zmienionym środowisku [37, 42]. Etap progresji jest nieodwracalny, a proliferacja tkanki nowotworowej jest niezależna od promotorów. W wyniku progresji w tkance nowotworowej kształtuje się fenotyp neoplastyczny (niezłośliwy) lub złośliwy. Progresja jest nieodwracalna, zmiany na tym etapie zachodzą na drodze mechanizmów genetycznych i epigenetycznych, a proliferacja tkanki nowotworowej jest niezależna od promotorów. Do cech nowotworów złośliwych zalicza się: ucieczkę od apoptozy, zwiększoną aktywność mitotyczną, niezależność od sygnałów wzrostowych, zwiększoną aktywność telomerazy, niewrażliwość na sygnały hamujące wzrost, niekontrolowaną proliferację,

zdolność do inwazji i przerzutowania, neoangiogenezę oraz zmiany genetyczne i metaboliczne [38].

W oparciu o badania obserwacyjne i modele matematyczne opracowane w ostatnich 60 latach, Vineis i wsp. (2010) wyróżnili pięć modeli kancerogenezy. Pierwszy model zakłada, że główną przyczyną kancerogenezy jest oddziaływanie czynników genotoksycznych i mutagennych. Rozwój tej koncepcji przyczynił się do rozwoju badań dotyczących interakcji kancerogenów z DNA, opracowania testu Ames oraz odkrycia onkogenów, czyli zmutowanych genów odpowiedzialnych za regulację podziałów komórkowych [43].

Kolejnym modelem jest model „niestabilności genomowej”. Model ten powstał w wyniku badania nowotworów dziedzicznych, które zaowocowały odkryciem istnienia genów supresorowych, hamujących proliferację komórek. Podstawowym założeniem teorii niestabilności genetycznej jest twierdzenie, iż zmiany w genach zaangażowany w utrzymanie stabilności chromosomów i funkcjonowanie mechanizmów naprawczych DNA prowadzą do kaskady zakłóceń skutkujących wzrostem częstości mutacji komórkowych [16].

W toku postępującej wiedzy naukowej powstały kolejne modele, które odzwierciedlają obecne spojrzenie na rozwój i sposób leczenia nowotworów. Model trzeci („niegenotoksyczny”) zwraca szczególną uwagę na kluczowe modulatory ryzyka zachorowania na nowotwory (dieta, otyłość, hormony, insulinooporność), które nie wpływają bezpośrednio na zmiany strukturalne w DNA, lecz wywołują zmiany funkcjonalne w komórkach, w tym poprzez mechanizmy epigenetyczne. W kontekście tego modelu istotną rolę w prewencji nowotworów odgrywa zmiana stylu życia, w tym dostarczanie wraz z żywnością składników bioaktywnych o działaniu przeciwnowotworowym [1]. Ostatnie dwa modele zwracają szczególną uwagę na klonalną ekspansję komórek nowotworowych (model „Darwinowski”), heterogeniczność komórek tworzących nowotwór oraz zmiany w jego mikrośrodkowisku, mechanizmy utrzymywania morfostazy we w pełni rozwiniętej tkance nowotworowej oraz możliwość istnienia nowotworowych komórek macierzystych, odpornych na konwencjonalną terapię (model „organizacji tkankowej”) [11, 30].

Rola otyłości w patogenezie nowotworów

W ostatnich latach szczególną uwagę zwraca się na rolę otyłości jako czynnika ryzyka nowotworów. Analiza retrospektywna >1000 badań epidemiologicznych wykazała, że nadmierna ilość tkanki tłuszczowej koreluje ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia 13 spośród 24 analizowanych typów nowotworów w populacji osób dorosłych [22]. W warunkach homeostazy (u osób z prawidłową masą ciała), mikrośrodkowisko tkanki tłuszczowej jest prawidłowo unaczynione i bogate w cytokiny przeciwzapalne (takie jak interleukina 4, interleukina 10 i interleukina 13). Nadmiar dostarczanej ener-

gii prowadzi do hiperplazji i hipertrofii adipocytów, w wyniku których dochodzi do hipoksji i nieprawidłowego ich odżywienia z powodu niedostatecznego unaczynienia tkanki tłuszczowej. Proces ten skutkuje wystąpieniem stresu wewnątrzkomórkowego i/lub śmiercią adipocytów. W wyniku powstałych uszkodzeń uwalniają się alarminy, cząsteczki odpowiedzialne za uruchomienie nieswoistej odpowiedzi zapalnej w reakcji na zagrożenia. Uwolnienie alarmin prowadzi do rekrutacji komórek układu immunologicznego (komórki dendrytyczne, makrofagi i granulocyty) i uruchomienia odpowiedzi immunologicznej o charakterze prozapalnym. Konsekwencją odpowiedzi prozapalnej jest nagromadzenie cytokin prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów [TNF], interferon gamma [IFN γ], interleukina 1 beta [IL-1 β] i interleukina 6 [IL-6]. Makrofagi gromadzą się wokół martwych adipocytów, tworząc tzw. crown-like structures [CLS]. Struktury te produkują duże ilości cytokin prozapalnych oraz wywołują desmoplazję (wzrost tkanki włóknistej), wchodzącą w interakcję z komórkami nowotworowymi. Dodatkowo, zmiany mikrośrodowiska tkanki tłuszczowej sprzyjają remodelingowi macierzy zewnątrzkomórkowej oraz dysfunkcjonalnej angiogenezie, promując etap progresji tkanki nowotworowej [32].

Wpływ sposobu żywienia na ryzyko zachorowania na nowotwory

Rosnąca liczba dowodów naukowych sugeruje, że sposób żywienia pełni istotną rolę w prewencji i leczeniu wielu chorób przewlekłych. Wpływ żywności na stan zdrowia można rozważać na trzech poziomach:

- wpływ pojedynczych składników pokarmowych,
- wpływ poszczególnych grup produktów,
- wpływ określonego sposobu odżywiania [wzór żywieniowy].

Ze względu na złożoność składu chemicznego matrycy, jaką stanowi żywność, w ostatnich latach szczególną uwagę przywiązuje się do badania wzorów żywieniowych. Analiza wzorów żywieniowych pozwala na ilościowe i jakościowe określenie składu diety określonych populacji i jego wpływu na stan zdrowia [6].

Najczęściej definiowanymi wzorami żywienia są: „prozdrowotny” wzór żywienia („healthy”; „prudent”), oparty na wysokim spożyciu produktów o prozdrowotnych właściwościach (warzywa, owoce, rośliny strączkowe, orzechy, niskotłuszczowy nabiał, produkty pełnoziarniste) oraz „niezdrowy” wzór żywienia („unhealthy”; „Western”), charakteryzujący się wysokim spożyciem produktów wysokoprzetworzonych, bogatych w nasycone kwasy tłuszczowe, sól, izomery trans, alkohol czy węglowodany oczyszczone [3].

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi istotne źródło składników bioaktywnych o działaniu przeciwnowotworowym [20]. Metaanaliza badań obserwacyjnych wykazała związek pomiędzy wzorem żywienia opartym na wysokim spożyciu produktów pochodzenia zwierzęcego a zwiększonym ryzykiem wystąpienia nowotworu

w porównaniu do wzoru żywienia opartego o produkty pochodzenia roślinnego [RR = 1.64, 95% CI: 1.02, 2.63]. Ponadto zaobserwowano obniżenie ryzyka wystąpienia nowotworu w przypadku stosowania diety opartej o produkty roślinne w porównaniu z dietą mieszaną [RR = 0.88, 95% CI: 0.82, 0.95] [3]. Metaanalizy sugerują ochronną rolę diety wegetariańskiej w stosunku do śmiertelności z powodu nowotworów i ryzyka ich wystąpienia w porównaniu z dietą mieszaną [31]. Godos i wsp. (2017) wykazali, że stosowanie diety semiwegetariańskiej i pescowegetariańskiej obniża ryzyko wystąpienia nowotworu jelita grubego odpowiednio o 14 i 33% w porównaniu z dietą mieszaną [15]. Inna metaanaliza wykazała, że dieta wegetariańska obniża ryzyko wystąpienia nowotworów o 8 %, a dieta wegańska o 15 % w porównaniu z dietą mieszaną [9].

Jednym ze wzorów żywienia o wysokiej popularności i dobrze udowodnionym korzystnym wpływie na zdrowie jest dieta śródziemnomorska. Przegląd metaanaliz z 2017 roku wykazał, że wysoka adherencja do diety śródziemnomorskiej wiąże się zarówno z niższą śmiertelnością z powodu nowotworów, jak i z niższym ryzykiem wystąpienia wielu typów nowotworów (m.in. jelita grubego, piersi, żołądka, trzustki, wątroby, przełyku, jajników) w porównaniu z niską adherencją do tego wzoru żywienia [10]. Z kolei metaanaliza przeprowadzona przez Morze i wsp. [29] wykazała, że ściśle stosowanie się do zaleceń diety śródziemnomorskiej obniża śmiertelność z powodu nowotworów o 13% oraz ryzyko wystąpienia nowotworów wątroby (o 36%), piersi (o 6%), żołądka (o 30%), głowy i szyi (o 54%), układu oddechowego (o 16%) i woreczka żółciowego (o 13%) [29].

Wykazano, że wysoka adherencja do „prozdrowotnego” wzoru żywienia wiąże się z obniżeniem ryzyka zachorowania na nowotwory piersi, jelita grubego i płuc, podczas gdy „niezdrowy” wzór żywienia powiązany jest ze zwiększoną zapadalnością na raka jelita grubego [37].

Wpływ wzorów żywienia na ryzyko wystąpienia nowotworów związany jest ze zwiększonym lub zmniejszonym spożyciem poszczególnych grup produktów spożywczych oraz synergistycznym oddziaływaniem zawartych w nich składników [37]. Badania sugerują, że wysokie spożycie oliwy z oliwek, warzyw, owoców, produktów pełnoziarnistych, nabiału (za wyjątkiem mleka pełnotłustego), orzechów oraz kawy obniża ryzyko wystąpienia wielu typów nowotworów, podczas gdy wysokie spożycie alkoholu, mleka pełnotłustego oraz czerwonego mięsa i jego przetworów zwiększa to ryzyko (Tabela 1) [2, 4, 5, 7, 12, 17, 19, 24, 25, 26, 28, 33, 34, 36, 41].

Spośród licznych związków bioaktywnych o działaniu przeciwnowotworowym na szczególną uwagę zasługują: resweratrol, galusan epigallokatechiny, kurkumina, kwercetyna, kwas elagowy i antocyjany. Podczas gdy większość komórek obecnych w tkance nowotworowej można zniszczyć przy pomocy konwencjonalnego leczenia,

Tabela 1. Wpływ spożycia produktów spożywczych na ryzyko zachorowania na nowotwór - wyniki metaanaliz.
 Table 1. The impact of food consumption on cancer risk - results of meta-analyses.

Autor, rok publikacji [numer referencji] Author, year of publication [reference number]	Rodzaj produktu spożywczego Type of product	Rodzaj porównania Type of comparison	Rodzaj nowotworu Type of cancer	Ryzyko względne i przedział ufności Relative risk and confidence interval
Markellos i wsp., 2022 [26]	oliwa z oliwek olive oil	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	nowotwory ogółem cancers overall	0.69 (95%CI: 0.62–0.77)
Guo i wsp., 2019 [17]	Warzywa vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	przewodu pokarmowego digestive tract	0.77 (95%CI: 0.66–0.89)
Vieira i wsp., 2016 [41]	warzywa i owoce/ fruit and vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	piersi / breast	0.67 (95%CI: 0.52–0.86)
Li i wsp., 2015 [24]	warzywa / vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	układu moczowego urinary tract	0.46 (95%CI: 0.29–0.72)
Hu i wsp., 2015 [19]	warzywa krzyżowe cruciferous vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	wątroby liver	0.61 (95%CI: 0.50–0.75)
Schwingshackl i wsp., 2018 [34]	warzywa i owoce/ fruit and vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	płuc / lung	0.86 (95% CI: 0.78-0.94)
	owoce / fruit	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	płuc / lung	0.92 (95% CI: 0.87-0.97)
	warzywa krzyżowe cruciferous vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	płuc / lung	0.82 (95% CI: 0.76-0.89)
	warzywa krzyżowe cruciferous vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	trzustki pancreas	0.78 (95% CI: 0.64-0.91)
	warzywa krzyżowe cruciferous vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	jajników ovary	0.89 (95% CI: 0.81-0.99)
	pełnoziarniste wholegrain	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	jelita grubego colorectal	0.88 (95% CI: 0.83-0.94)
	warzywa vegetables	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	jelita grubego colorectal	0.96 (95% CI: 0.92-1.00)
	owoce fruit	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	jelita grubego colorectal	0.93 (95% CI: 0.88-0.98)
	jajka	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	jelita grubego colorectal	1.35 (95% CI: 1.11-1.66)

	eggs nabiał dairy products czerwone mięso red meat przetworzone mięso processed meat			colorectal jelita grubego colorectal jelita grubego colorectal jelita grubego colorectal	0.83 (95% CI: 0.76-0.89) 1.12 (95% CI: 1.06-1.18) 1.14 (95% CI: 1.06-1.21)
Bermejo i wsp., 2019 [4]	mleko milk mleko milk nabiał dairy products fermentowane produkty mleczne fermented milk products mleko pełnotłuste whole milk fermentowane produkty mleczne fermented milk products	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake średnie vs niskie spożycie medium vs low intake średnie vs niskie spożycie medium vs low intake średnie vs niskie spożycie medium vs low intake wysokie vs niskie spożycie medium vs low intake wysokie vs niskie spożycie medium vs low intake		pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder pęcherza moczowego bladder	0.89 (95% CI: 0.81-0.98) 0.90 (95% CI: 0.82-0.98) 0.90 (95% CI: 0.81-0.98) 0.87 (95% CI: 0.79-0.96) 1.21 (95% CI: 1.04-1.38) 0.78 (95% CI: 0.61-0.94)
Long i wsp., 2020 [25]	Orzechy / nuts	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		nowotwory ogółem cancers overall przewodu pokarmowego digestive tract	0.90 (95% CI: 0.85-0.95) 0.83 (95% CI: 0.77-0.89)
Micek i wsp., 2019 [28]	kawa / coffee	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		jelita grubego / colorectal okreźnicy / colon	1.01 (95% CI: 0.91-1.11) 1.01 (95% CI: 0.88-1.17)
Li i wsp., 2019 [24]	kawa / coffee	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		trzustki / pancreas	1.08 (95% CI: 0.94-1.25)
Chen i wsp., 2021 [7]	kawa / coffee	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		prostaty / prostate	0.91 (95% CI: 0.84-0.98)
Song i wsp., 2019 [36]	kawa / coffee kawa i herbata / coffee and tea	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		mózgu / brain mózgu / brain	0.79 (95% CI: 0.58-0.98) 0.68 (95% CI: 0.48-0.97)
Salari-Moghaddam i wsp., 2019 [33]	kawa / coffee	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake		jajników / ovaries	1.08 (95% CI: 0.89-1.33)

Bhurbal i wsp., 2020 [5]	kawa / coffee	pijący vs niepijący drinkers vs non-drinkers	wątroby / liver	0.69 (95% CI: 0.56-0.85)
Bagnardi i wsp., 2015 [2]	alkohol / alcohol	high intake vs no/occasional intake	jamy ustnej i gardła oropharyngeal przełyku / esophageal piersi / breast jelita grubego / colorectal krtani / larynx wątroby / liver żołądka / stomach trzustki / pancreas płuc / lung woreczka żółciowego gallbladder prostaty / prostate	5.13 (95% CI: 4.31-6.10) 4.95 (95% CI: 3.86-6.34) 1.61 (95% CI: 1.33-1.94) 1.44 (95% CI: 1.25-1.65) 2.65 (95% CI: 2.19-3.19) 2.07 (95% CI: 1.66-2.58) 1.21 (95% CI: 1.07-1.36) 1.19 (95% CI: 1.11-1.28) 1.15 (95% CI: 1.02-1.30) 2.64 (95% CI: 1.62-4.30) 1.09 (95% CI: 0.98-1.21)
Farvid i wsp., 2021 [12]	mięso czerwone / red meat	wysokie vs niskie spożycie high vs low intake	piersi / breast endometrium endometrium jelita grubego / colorectal okreźnicy / colon odbytu / anal płuc / lung rak wątrobokomórkowy hepatocellular	1.09 (95% CI: 1.03-1.15) 1.25 (95% CI: 1.01-1.56) 1.10 (95% CI: 1.03-1.17) 1.17 (95% CI: 1.09-1.25) 1.22 (95% CI: 1.01-1.46) 1.26 (95% CI: 1.09-1.44) 1.22 (95% CI: 1.01-1.46)

Objaśnienia /Explanatory notes :

CI - przedział ufności / CI - confidence interval

niewielka subpopulacja tzw. macierzystych komórek nowotworowych wykazuje oporność na radioterapię i chemioterapię. Komórki te posiadają wyższą przeżywalność oraz zwiększoną zdolność do proliferacji i różnicowania w porównaniu z innymi typami komórek obecnych w nowotworach. Uważa się, że komórki te mogą odpowiadać za nawroty chorób nowotworowych. Obecnie trwają badania nad zastosowaniem wyżej wymienionych związków w prewencji i wspomaganiu leczenia nowotworów [41]. Dotychczasowe próby kliniczne wykazały korzystne działanie sulforafanu, resweratrolu, kurkuminy, kwercetyny, kamferolu i gingerolu w prewencji oraz leczeniu nowotworów. Związki te wykazują zarówno bezpośredni hamujący wpływ na ścieżki metaboliczne sprzyjające rozwojowi raka, jak i pośredni wpływ prewencyjny poprzez działanie przeciwutleniające i immunomodulujące. Zaobserwowano, że związki fenolowe oddziałują na wszystkie etapy kancerogenezy m.in. poprzez takie mechanizmy, jak inhibicja enzymów wątrobowych aktywujących kancerogeny, inhibicja proliferacji komórek rakowych czy indukcja apoptozy [14].

W 2018 roku ukazał się obszerny raport „Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective” opracowany przez American Cancer Research Fund i American Institute of Cancer Research. Raport zwraca uwagę na istotny wpływ spożycia alkoholu na zwiększone ryzyko wystąpienia nowotworów jamy ustnej, żołądka, wątroby, jelita grubego i piersi. Ponadto w raporcie wykazano silny związek pomiędzy nadmiernym spożyciem mięsa a występowaniem raka jelita grubego oraz silną zależność pomiędzy nadmierną masą ciała (nadwagą i otyłością) a występowaniem nowotworów piersi, żołądka, jamy ustnej, przełyku, trzustki, woreczka żółciowego, wątroby, jelita grubego, jajników, endometrium, prostaty i nerek. Z kolei według raportu wysokie spożycie produktów pełnoziarnistych, nabiału i produktów bogatych w błonnik prawdopodobnie zmniejsza ryzyko wystąpienia nowotworów jelita grubego, a wysokie spożycie kawy obniża ryzyko zachorowania na raka wątroby. Na podstawie dostępnych dowodów naukowych, w raporcie sformułowano następujące rekomendacje:

- utrzymywanie prawidłowej masy ciała (BMI 18.5 ÷ 24.99),
- zwiększenie aktywności fizycznej (co najmniej 150 min tygodniowo aktywności o średniej intensywności),
- spożywanie diety bogatej w produkty pełnoziarniste, warzywa, owoce i nasiona, w tym nasiona roślin strączkowych,
- ograniczenie spożycia żywności typu „fast food” i żywności przetworzonej o dużej zawartości tłuszczu, skrobi i cukrów prostych,
- ograniczenie spożycia czerwonego i przetworzonego mięsa,
- ograniczenie spożycia napojów słodzonych,
- ograniczenie spożycia alkoholu,
- nieużywanie suplementów w celu prewencji nowotworów [45].

Aktywność przeciwnowotworowa polifenoli, karotenoidów i glukozyzolanów została dobrze udokumentowana w licznych badaniach z wykorzystaniem modeli komórkowych. Wiele z tych związków wykazuje jednak niską biodostępność i wchłanianość z przewodu pokarmowego oraz szybki spadek stężenia w osoczu ze względu na efekt pierwszego przejścia (metabolizm wątrobowy). W związku z tym szczególne zainteresowanie wzbudzają nowoczesne systemy dostarczania składników z wykorzystaniem osiągnięć nanotechnologii. Do przykładów takich systemów należą nanocząstki polimerowe, liposomy czy nanoemulsje. Systemy te charakteryzuje zwiększona stabilność i biodostępność dostarczanych cząsteczek, dłuższe ich uwalnianie, ochrona przed degradacją związaną z oddziaływaniem płynów zawartych w przewodzie pokarmowym oraz ochrona przed tlenem, temperaturą, światłem czy wodą. Dotychczas jednak przeprowadzono niewiele prób klinicznych z wykorzystaniem tych metod i potrzeba dalszych badań w tym zakresie [41].

Podsumowanie

Podsumowując, kancerogeneza jest wieloetapowym i wieloczynnikowym procesem. Dowody naukowe sugerują, że sposób odżywiania jest kluczowym modyfikowalnym czynnikiem ryzyka rozwoju nowotworów. Głównym źródłem składników bioaktywnych o działaniu przeciwnowotworowym są produkty pochodzenia roślinnego. Modyfikacja stylu życia poprzez zwiększenie podaży tych składników, zmniejszenie podaży żywności o działaniu kancerogennym, utrzymywanie prawidłowej masy ciała i dbanie o aktywność fizyczną, może w istotny sposób obniżyć ryzyko zachorowania na nowotwory. W związku z tym szczególną uwagę powinno zwracać się na edukację żywieniową i promowanie prawidłowych nawyków żywieniowych.

Literatura

- [1] An, C., Pipia, I., Ruiz, A. S., Argüelles, I., An, M., Wase, S., & Peng, G. (2022). The molecular link between obesity and genomic instability in cancer development. *Cancer Letters*, 216035.
- [2] Bagnardi, V., Rota, M., Botteri, E., Tramacere, I., Islami, F., Fedirko, V., ... & La Vecchia, C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. *Br. J. Cancer*, 2015, 112(3), 580-593.
- [3] Bella, F., Godos, J., Ippolito, A., Di Prima, A., & Sciacca, S. Differences in the association between empirically derived dietary patterns and cancer: a meta-analysis. *Int. J. Food. Sci. Nutr.*, 2017 68(4), 402-410.
- [4] Bermejo, L. M., López-Plaza, B., Santurino, C., Cavero-Redondo, I., & Gómez-Candela, C.. Milk and dairy product consumption and bladder cancer risk: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Adv. Nutr/ 2019 10(suppl_2), S224-S238.*
- [5] Bhurwal, A., Rattan, P., Yoshitake, S., Pioppo, L., Reja, D., Dellatore, P., & Rustgi, V.. Inverse Association of Coffee with Liver Cancer Development: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, 2020, 29(3).

- [6] Cena, H., i Calder, P. C. Defining a healthy diet: evidence for the role of contemporary dietary patterns in health and disease. *Nutrients*, 2020, 12(2), 334.
- [7] Chen, X., Zhao, Y., Tao, Z., & Wang, K. Coffee consumption and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 2021, 11(2), e038902.
- [8] Cianciosi, D., Varela-Lopez, A., Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Reboledo-Rodriguez, P., Zhang, J., Quiles, J.L., Nabavi, S.F., Battino, M. & Giampieri, F. Targeting molecular pathways in cancer stem cells by natural bioactive compounds. *Pharmacol.*, 2018, 135, 150-165.
- [9] Dinu, M., Abbate, R., Gensini, G. F., Casini, A., & Sofi, F. (2017). Vegetarian, vegan diets and multiple health outcomes: a systematic review with meta-analysis of observational studies. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 57(17), 3640-3649.
- [10] Dinu, M., Pagliai, G., Casini, A., & Sofi, F. (2018). Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2018, 72(1), 30-43.
- [11] Eguchi, T., Sheta, M., Fujii, M., & Calderwood, S. K.. Cancer extracellular vesicles, tumoroid models, and tumor microenvironment. *Semin. Cancer Biol.*, 2022
- [12] Farvid, M. S., Sidahmed, E., Spence, N. D., Mante Angua, K., Rosner, B. A., & Barnett, J. B. Consumption of red meat and processed meat and cancer incidence: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur. J. Epidemiol.*, 2021, 36, 937-951.
- [13] Fishbein, A., Hammock, B. D., Serhan, C. N., & Panigrahy, Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation?. *Pharmacol.*, 2021, 218, 107670.
- [14] Garcia-Oliveira, P., Otero, P., Pereira, A. G., Chamorro, F., Carpena, M., Echave, J., Fraga-Corral, M., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. Status and challenges of plant-anticancer compounds in cancer treatment. *Pharmaceuticals*, 2018, 14(2), 157.
- [15] Godos, J., Bella, F., Sciacca, S., Galvano, F., & Grosso, G. Vegetarianism and breast, colorectal and prostate cancer risk: an overview and meta-analysis of cohort studies. *J. Hum. Nutr. Diet.*, 2017,30(3), 349-359.
- [16] Guo, S., Zhu, X., Huang, Z., Wei, C., Yu, J., Zhang, L., ... & Li, . Genomic instability drives tumorigenesis and metastasis and its implications for cancer therapy. *Biomed.*, 2023, 157, 114036.
- [17] Guo, X. F., Shao, X. F., Li, J. M., Li, S., Li, K. L., & Li, D. Fruit and vegetable intake and liver cancer risk: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Food Funct.*, 2019, 10(8), 4478-4485.
- [18] Helfinger, V., & Schröder, K. Redox control in cancer development and progression. *Mol. Aspects Med.*, 2018, 63, 88-98.
- [19] Hu, J., Hu, Y., Hu, Y., & Zheng, S. Intake of cruciferous vegetables is associated with reduced risk of ovarian cancer: a meta-analysis. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2015, 24(1), 101-109.
- [20] Hussain, S. S., Kumar, A. P., & Ghosh, R.. Food-based natural products for cancer management: Is the whole greater than the sum of the parts?. *Semin. Cancer Biol.* 2016, 40, 233-246.
- [21] Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., ... & Fasoulakis, Z. Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review. *Anticancer Res.*, 2020 40(11), 6009-6015.
- [22] Lauby-Secretan, B., Scoccianti, C., Loomis, D., Grosse, Y., Bianchini, F., & Straif, K.. Body fatness and cancer — viewpoint of the IARC Working Group. *N. Engl. J. Med.*, 2016, 375, 794–798.
- [23] Li, L. Y., Luo, Y., Lu, M. D., Xu, X. W., Lin, H. D., & Zheng, Z. Q. Cruciferous vegetable consumption and the risk of pancreatic cancer: a meta-analysis. *World J. Surg. Oncol.*, 2015, 13, 1-8.
- [24] Li, T. D., Yang, H. W., Wang, P., Song, C. H., Wang, K. J., Dai, L. P., ... & Ye, H. Coffee consumption and risk of pancreatic cancer: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Int. J. Food. Sci. Nutr.*, 2019, 70(5), 519-529.

- [25] Long, J., Ji, Z., Yuan, P., Long, T., Liu, K., Li, J., & Cheng, L. Nut Consumption and Risk of Cancer: A Meta-analysis of Prospective Studies. *Cancer Epidemiol*, 2020, 29(3), 565-573.
- [26] Markellos, C., Ourailidou, M. E., Gavriatopoulou, M., Halvatsiotis, P., Sergentanis, T. N., & Psaltopoulou, T. Olive oil intake and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2022, 17(1), e0261649.
- [27] Mattiuzzi, C., & Lippi, G. Current cancer epidemiology. *J. Epidemiol. Glob. Health*, 2019, 9(4), 217.
- [28] Micek, A., Gniadek, A., Kawalec, P., & Brzostek, T.. Coffee consumption and colorectal cancer risk: a dose-response meta-analysis on prospective cohort studies. *Int. J. Food Sc. Nutr.*, 2019, 70(8), 986-1006.
- [29] Morze, J., Danielewicz, A., Przybyłowicz, K., Zeng, H., Hoffmann, G., & Schwingshackl, L. An updated systematic review and meta-analysis on adherence to mediterranean diet and risk of cancer. *Eur. J. Nutr.*, 2021, 60, 1561-1586.
- [30] Ohta, Y., Fujii, M., Takahashi, S., Takano, A., Nanki, K., Matano, M., ... & Sato, T. Cell-matrix interface regulates dormancy in human colon cancer stem cells. *Nature*, 2022, 608(7924), 784-794.
- [31] Oussalah, A., Levy, J., Berthezène, C., Alpers, D. H., & Guéant, J. L. Health outcomes associated with vegetarian diets: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Clin. Nutr.*, 2020, 39(11), 3283-3307.
- [32] Quail, D. F., & Dannenberg, A. J. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nat. Rev. Endocrinol*, 2019, 15(3), 139-154.
- [33] Salari-Moghaddam, A., Milajerdi, A., Surkan, P. J., Larijani, B., & Esmailzadeh, A. Caffeine, Type of Coffee, and Risk of Ovarian Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *J. Clin. End. Met.*, 2019, 104(11), 5349-5359.
- [34] Schwingshackl, L., Schwedhelm, C., Hoffmann, G., Knüppel, S., Laure Preterre, A., Iqbal, K., ... & Schlesinger, S. Food groups and risk of colorectal cancer. *Int. J. Canc.*, 2018, 142(9), 1748-1758.
- [35] Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A.). *Cancer statistics, 2023*. CA: a Cancer Journal for Clinicians, 2023, 73(1), 17-48.
- [36] Song, Y., Wang, Z., Jin, Y., & Guo, J. Association between tea and coffee consumption and brain cancer risk: an updated meta-analysis. *World J. Surg. Oncol.*, (2019), 17(1), 1-9.
- [37] Steck, S. E., Murphy, E. A. Dietary patterns and cancer risk. *Nat. Rev. Cancer*, 2020, 20(2), 125-138.
- [38] Takeshima, H., Ushijima, T. Accumulation of genetic and epigenetic alterations in normal cells and cancer risk. *NPJ Precis.*, 2019, 3(1), 1-8.
- [39] Tanaka, T., Shimizu, M., Kochi, T., Moriwaki, H. Chemical-induced carcinogenesis. *J. Exp. Clin. Med.*, 2013, 5(6), 203-209.
- [40] Vieira, A. R., Abar, L., Vingeliene, S., Chan, D. S. M., Aune, D., Navarro-Rosenblatt, D., ... & Norat, T. Fruits, vegetables and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology*, 201627(1), 81-96.
- [41] Vieira, I. R. S., & Conte-Junior, C. A. Nano-delivery systems for food bioactive compounds in cancer: Prevention, therapy, and clinical applications *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2022, 1-26.
- [42] Vincent, T. L., Gatenby, R. A. An evolutionary model for initiation, promotion, and progression in carcinogenesis. *Int. J. Oncol.*, 2008, 32(4), 729-737.
- [43] Vineis, P., Schatzkin, A., & Potter, J. D. Models of carcinogenesis: an overview. *Carcinogenesis*, 2010, 31(10), 1703-1709.
- [44] Wong, R. S.. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2011, 30(1), 1-14..

- [45] World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, nutrition, physical activity and cancer: a global perspective. Continuous Update Project Expert Report 2018.
- [46] Wu, S., Zhu, W., Thompson, P., & Hannun, Y. Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1), 1-12.

THE ROLE OF NUTRITION AND BIOACTIVE SUBSTANCES OF PLANT ORIGIN IN THE PREVENTION OF CANCER DISEASES

S u m m a r y

Background. Cancer is one of the leading causes of mortality worldwide. Carcinogenesis is a multi-stage and complex process that may be partially reversible. In the process of carcinogenesis, numerous metabolic pathways associated with normal cell growth and division are disturbed. An important role in the prevention of cancer is played by a lifestyle characterized by maintaining a healthy weight, an appropriate level of physical activity and increased consumption of food with anti-cancer properties.

Results and conclusion. The paper presents the latest literature reports on the pathogenesis of cancer and the impact of diet on the risk of its occurrence. In addition, known models of carcinogenesis and their impact on the development of knowledge in the field of oncology are discussed. Current recommendations on nutrition in cancer prevention, developed by the American Cancer Research Fund, are also presented. The aim of this paper is also to present the role of selected bioactive components of plant origin in cancer prevention. The paper presents basic information on carcinogenesis and the dietary anticarcinogen mechanisms. Individual groups of bioactive compounds showing anticancer activity are discussed: dietary fiber, phenolic compounds, flavonoid phytoestrogens (classified as phenolic compounds) and non-flavonoid compounds, betalains, glucosinolates, phytates and carotenoids. An attempt was made to systematize knowledge on the anticancer properties of these compounds. By altering the diet, the supply of plant-derived bioactive components should be increased, which, through various mechanisms, have the ability to inhibit various phases of tumor formation and reduce the supply of potential carcinogens.

Key words: cancer, prevention, carcinogenesis, bioactive components, nutrition patterns, obesity ☒

BOHDAN ACHREM-ACHREMOWICZ

ZNACZENIE WŁAŚCIWEGO ODŻYWIANIA W ZAPOBIEGANIU I LECZENIU SARKOPENII U OSÓB STARSZYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Sarkopenia jest chorobą, która dotyka przede wszystkim osoby starsze, szczególnie kobiety i charakteryzuje się stopniową utratą mięśni oraz ich siły. Kliniczna definicja sarkopenii określa ją jako postępującą utratę masy mięśni szkieletowych, co niesie ze sobą ryzyko niepełnosprawności fizycznej, obniżonej jakości życia i zwiększonej śmiertelności.

Wyniki i wnioski. Właściwe żywienie jest niezbędne zarówno w zapobieganiu, jak i leczeniu sarkopenii. Spożycie pełnowartościowego białka i witaminy D, a także generalnie zbilansowanej diety jest kluczowe w leczeniu sarkopenii. Wskazuje się również na to, że warzywa oraz owoce obfite w diecie śródziemnomorskiej i japońskiej również mogą wywierać działanie protekcyjne w ochronie funkcjonowania mięśni i zapobiegać niepełnosprawności fizycznej. Mimo że dotychczasowe badania nie wyjaśniły wszystkich przyczyn występowania sarkopenii, to ustalono najważniejsze z czynników odgrywających znaczącą rolę w profilaktyce i terapii sarkopenii. Są nimi optymalne spożycie białka ogółem, w tym pochodzenia zwierzęcego jak i roślinnego w odpowiednich proporcjach w ilości zgodnej z zapotrzebowaniem oraz aktywność ruchowa. Generalnie spożywanie zbilansowanej diety zawierającej żywność bogatą w składniki odżywcze jest związane z ochroną przed utratą mięśni spowodowaną zaawansowanym wiekiem i brakiem aktywności fizycznej.

Słowa kluczowe: sarkopenia, zanik mięśni, żywność; białka, warzywa, owoce, aktywność fizyczna

Wprowadzenie

Termin „sarkopenia” (gr. *sarx* – ciało, *penia* - niedostatek) utworzył Irwin Rosenberg, opisując związany z wiekiem spadek masy mięśniowej, występujący również w powiązaniu z innymi chorobami. Obecnie jest on używany do określenia utraty masy mięśni szkieletowych i sił witalnych wśród osób starszych [16]. Europejska Grupa Robocza ds. Sarkopenii u Osób Starszych (EWGSOP) wprowadziła kliniczną definicję sarkopenii, rozumianej jako ogólna i progresywna utrata sił i masy mięśni szkieleto-

wych powiązana z ryzykiem wystąpienia niepełnosprawności fizycznej, niskiej jakości życia i zagrożenia śmiercią [23]. Osoby dorosłe, które przekroczyły 40 r. życia, mogą stracić około 8 % masy mięśniowej co dekadę, oznacza to, że w ciągu 30 lat mogą stracić nawet 24 % masy. W kolejnych latach tempo utraty mięśni może się zwiększać do nawet 15 % na dekadę. Określono również czynniki ryzyka, które mogą przyczynić się do rozwoju sarkopenii. Wśród nich są: niedoborowa dieta w białka i inne ważne składniki odżywcze oraz zmniejszenie aktywności mięśni (np. brak ruchu, siedzący tryb życia, długotrwałe leżenie w łóżku, hospitalizacja), a także choroby takie jak przewlekłe stany zapalne, nowotwory złośliwe, zaburzenia endokrynologiczne i zaawansowana niewydolność narządów [16].

Odżywianie odgrywa szczególnie ważną rolę w zachowaniu zdrowych mięśni poprzez wpływ na homeostazę i metabolizm składników energetycznych w miocytach. Niestety, spożycie składników odżywczych, zwłaszcza białka i innych składników o wysokiej wartości energetycznej, może być niewystarczające z powodu złego wchłaniania, zaburzeń żołądkowo-jelitowych lub stosowania leków anoreksogennych [13]. Do niedożywienia może także prowadzić zmiana nawyków żywieniowych w okresie dorosłości. Przeprowadzone badania empiryczne wykazały, że pomiędzy 20. a 80. rokiem życia pobór energii zmniejsza się o około 600 kcal u kobiet i 1330 kcal u mężczyzn. Powoduje to, że osoby starsze są bardziej narażone na choroby związane z niedoborem białka, ponieważ jego spożycie w porównaniu z młodszymi jest zwykle mocno ograniczone [10]. Podobne zmiany mogą dotyczyć wielu innych składników odżywczych, które są niezbędne dla utrzymania masy mięśniowej, takich jak aminokwasy egzogenne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 (PUFA), metabolity aminokwasów, kwas foliowy, magnez, przeciwutleniacze oraz witaminy D i B6 [23].

Postępujące zaburzenia aktywności mięśni szkieletowych, wiążą się ze zwiększonym ryzykiem upadków, złamań oraz niepełnosprawności fizycznej [5]. Objawy niewydolności mięśni zwiększające ryzyko kontuzji, występują głównie u osób zagrożonych tą chorobą, pogarszając wydolności funkcjonalne organizmu [28]. Rozwój choroby może doprowadzić także do obniżenia jakości i długości życia [26]. Pierwotna definicja sarkopenii, rozumianej jako niski poziom masy mięśniowej, została rozszerzona i obejmuje nie tylko ilościowe zmiany mięśni, ale również podstawowe procesy komórkowe, które przyczyniają się do utraty mięśni szkieletowych jako objawu klinicznego. Badania wykazały, że sarkopenia prowadzi do rozwoju wielu chorób, takich jak zespół metaboliczny, choroby sercowo-naczyniowe i osteoporoza [19]. Przy niewłaściwym trybie życia spadek masy mięśniowej może pojawić się już w wieku około 40 lat. Najbardziej narażone na rozwój sarkopenii i jej negatywne skutki zdrowotne są osoby starsze, z niedowagą, zwłaszcza kobiety (częściej niż mężczyźni) i pacjenci z chorobami przewlekłymi [22]. Obecnie sarkopenia stanowi poważny problem zdrowotny, zwłaszcza w społeczeństwach starzejących się. Wczesne rozpoznanie jest klu-

czowe, a leczenie polega na podejmowaniu działań mających na celu zapobieganie szybkiej utracie masy mięśniowej i siły. Podstawowym zaleceniem jest regularna aktywność fizyczna oraz prawidłowo zbilansowana dieta. Celem artykułu jest upowszechnienie wiedzy o nasilającej się sarkopenii i jej skutkach zdrowotnych, w związku ze starzeniem się współczesnych społeczeństw.

Występowanie choroby

Publikacje omawiające światowy zasięg sarkopenii są stosunkowo liczne, co świadczy o nasileniu jej występowania i rosnących potrzebach przeciwdziałania. Szacuje się, że problem sarkopenii może dotyczyć od kilku do kilkudziesięciu procent światowej populacji osób starszych [7]. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) na podstawie metaanalizy badań nad procesem starzenia się wykazała, że u 18 363 osób powyżej 65. roku życia średnio 15,2 % miało sarkopenię. Najwyższy odsetek przypadków sarkopenii wystąpił w Indiach (17,7 %), zaś najniższy – w Polsce (12,6 %) [26]. Badanie 542 losowo wybranych mieszkańców Singapuru w wieku powyżej 60 lat wykazało że sarkopenia występowała u 32,2 %, w tym 33,7 % mężczyzn i 30,9 % kobiet [21]. W Chinach, rozpowszechnienie sarkopenii w osób powyżej 50. r. wynosi 19 % [14]. W Korei Południowej z kolei badanie 82 221 osób powyżej 50. roku życia wykazało sarkopenię u 21,5 %. Przegląd światowych publikacji na temat sarkopenii w latach 2019 ÷ 2020 obejmował 207 badań przekrojowych i 53 badania kohortowe. Ogólna częstotliwość występowania tej choroby wahała się od 0,2 % do 86,5 %, dla klasyfikacji według płci (0,3 ÷ 91,2 % kobiet i 0,4 ÷ 87,7 % mężczyzn). Ciężki stan sarkopenii oszacowano tylko w 34 przypadkach, z rozpowszechnieniem od 0,2% do 45,0% u kobiet i od 0,2 % do 17,1 % u mężczyzn (średnio: 0,2 ÷ 34,4 %) [22]. Metaanaliza przeprowadzona przez Pacifico i wsp. [20] wykazała zwiększoną częstość występowania sarkopenii wśród mężczyzn i kobiet ze zdiagnozowanymi chorobami przewlekłymi. Przebadano 17 206 osób w wieku $65 \pm 1,6$ lat. Występowanie choroby stwierdzono u 31,4 % osób z problemami układu krążenia, 26,4% - z otępieniem, 31,1 % - z cukrzycą i u 26,8 % z chorobą układu oddechowego. Analiza wykazała bardzo rozpowszechnioną sarkopenię u osób z wieloma chorobami układowymi [20]. W oparciu o prospektywne badania kohortowe pacjentów hospitalizowanych, nie tylko związanych z chorobami niedożywienia, sarkopenia wiązała się ze złą jakością życia. Wśród dotkniętych nią pacjentów stwierdzono więcej ponownych przyjęć i wyższą śmiertelność [2]. Zmienne rozpowszechnienie sarkopenii na świecie może wynikać z odmienności głównych czynników ryzyka w rozwoju tej choroby, takich jak ogólna sprawność fizyczna, poziom codziennej aktywności, właściwa dieta i zmienne czynniki specyficzne dla danej populacji. Przyczyną znacznego rozwoju sarkopenii wśród starszej populacji są głównie; przewlekły stan zapalny, zanik neuronów ruchowych, zmniejszone spożycie białka i brak ruchu [15]. Odpowiednio wysokie spożycie białka

jest ważne dla utrzymania masy mięśniowej podczas procesu starzenia, również ilość i źródło białka niezbędnego dla optymalnego zapobiegania sarkopenii są określone. Polskie normy żywienia zalecają, by u osób starszych spożycie białek stanowiło od $15 \div 20$ % spożywanej energii, co odpowiada około 1,2 g białka /kg masy ciała/dobę [19].

Badania starszych Europejczyków podjęte przez Montiela-Rojasa i wsp. [17] potwierdziły, że zwiększanie w diecie proporcji białek pochodzenia roślinnego kosztem tych pochodzenia zwierzęcego, w szerokim zakresie białka ogółem, również korzystnie wpływa na niższe ryzyko wystąpienia sarkopenii. Wcześniejsze badania sugerują, że synteza i degradacja białek, autofagia, upośledzona aktywacja komórek satelitarnych, dysfunkcja mitochondriów i inne czynniki związane z osłabieniem mięśni, a także ich zwyrodnienie, mogą być potencjalną molekularną patofizjologią sarkopenii.

Przeprowadzono dodatkowe badania w celu określenia związku między sarkopenią a naturalną żywnością. Według wytycznych UE oświadczenia dotyczące naturalnej żywności dozwolone są tylko gdy żywność zawiera naturalne składniki lub nie zawiera żadnych dodatków chemicznych (Rozporządzenie UE nr 1047/2012). Departament Rolnictwa USA określił, że żywność jest naturalna, gdy jest minimalnie przetworzona i nie zawiera sztucznych aromatów [4]. Nieprzetworzone owoce i warzywa stanowią tylko jeden składnik. Badania przeprowadzone przez Koyanagi i wsp. [12] wykazały, że kobiety spożywające duże ilości owoców miały o 40 % mniejsze ryzyko wystąpienia sarkopenii; wśród mężczyzn związek ten był nieistotny. Dalsze badania wykazały, że konsumpcja warzyw nie była istotnie związana z sarkopenią [11]. Zbadano również związek między tą chorobą a generalnie sposobem odżywiania. Wykazano, że dieta śródziemnomorska lub dieta z przewagą warzyw, owoców, białka z roślin strączkowych oraz kwasy tłuszczowe omega-3, mogą obniżać ryzyko sarkopenii wśród osób starszych. Badania przekrojowe wśród 2 570 kobiet w wieku $18 \div 79$ lat według Kelaiditi i wsp. [9] wykazały, że przestrzeganie śródziemnomorskiej diety było znacząco związane ze wzrostem masy mięśniowej. Przegląd piśmiennictwa autorstwa Granic i wsp. [8] podkreśla korzystne działanie diety śródziemnomorskiej ograniczającej utratę siły i masy mięśniowej. Jednakże autorzy sugerują, że muszą istnieć zharmonizowane metody definiowania modeli żywieniowych dotyczących diety śródziemnomorskiej.

Opracowano odpowiednie strategie żywieniowe i ćwiczenia interwencji, które mogą złagodzić postępowanie choroby [24]. Odpowiedni poziom wiedzy na temat sarkopenii wśród osób dorosłych, a zwłaszcza starszych, jest bardzo ważny dla skutecznego działania zapobiegawczego i leczenia. Niestety, jak wskazują badania Van Ancum i wsp. [1], obecna wiedza o możliwościach zapobiegania sarkopenii jest ograniczona, konieczna jest również profilaktyczna edukacja zdrowych osób dorosłych.

Badania przeprowadzone w Polsce

W roku 2011 w „Gerontologii Polskiej” ukazało się opracowanie przeglądowe na temat sarkopenii wieku podeszłego [25]. Nieco nowsza praca, również adresowana do środowiska medycznego, została opublikowana w 2017 r. [18]. Przedstawione poniżej omówienie najnowszego badania sarkopenii, opublikowanego w roku 2023 przez Bogucką i wsp. [3], charakteryzuje aktualny stan wiedzy o występowaniu tej choroby i ocenia czynniki ryzyka. W pracy podkreślono rolę, jaką może odegrać profilaktyka w zapobieganiu rozwojowi sarkopenii. Celem tych badań było określenie częstości występowania i rozwoju choroby w Polsce wśród kobiet, analiza roli wybranych czynników ryzyka związanych ze stylem życia, czyli poziomu aktywności fizycznej, spożycia wybranych składników odżywczych oraz stanu odżywienia organizmu w tym całkowitej zawartości tkanki tłuszczowej. Przebadano 302 kobiety w wieku ≥ 65 lat, wykonano bioelektryczną analizę impedancyjną składu ciała, pomiary siły mięśniowej testem Timed Up and Go, ocenę aktywności fizycznej za pomocą akcelerometru i ocenę składu diety. Wystąpienie choroby diagnozowano według metodologii zalecanej przez Europejską Grupę Roboczą ds. Sarkopenii u osób starszych, zwrócono szczególną uwagę na ocenę siły mięśni jako miernika umożliwiającego szybką diagnozę. Stwierdzono dużą częstość występowania sarkopenii, gdyż blisko u co trzeciej zbadanej kobiety (u 28,8 %), co uzasadnia potrzebę wdrażania profilaktyki tego schorzenia.

Podsumowanie

Na podstawie przytoczonego przeglądu badań stwierdzono, że sarkopenia jest powszechnym problemem wśród osób w starszym wieku w skali międzynarodowej, w tym w Polsce choroba ta szczególnie dotyczy kobiet w wieku powyżej 65 roku życia. Do jej rozwoju mogą się przyczyniać czynniki ryzyka związane z niewłaściwym stylem życia, takie jak brak dostatecznej codziennej aktywności ruchowej i niedobór w diecie niektórych składników odżywczych (w tym białka i witaminy D). Dlatego też dieta osób starszych (w międzynarodowym piśmiennictwie są informacje że sarkopenia występuje również u mężczyzn), powinna być zbilansowana, zgodna z normami żywienia odpowiednimi dla wieku i płci oraz zawierać odpowiednią ilość pełnowartościowych białek i witaminy D. Właściwe żywienie, oparte na proporcjonalnie zwiększonym udziale białka roślinnego (w szerokim zakresie białka całkowitego) oraz warzyw i owoców korzystnie wpływa nie tylko na poprawę zdrowia, lecz także na spowolnienie utraty masy mięśni związanej z wiekiem. W utrzymaniu masy i siły mięśniowej może też pomóc regularna aktywność fizyczna, w tym, zalecane osobom starszym wykonanie minimum 4 tysięcy kroków dziennie w postaci np. spaceru.

Literatura

- [1] Van Ancum J. M., Meskers C. G. M., Reijnierse E. M., Yeung S. S. Y., Jonkman N. H., Trappenburg M. C., Pijnappels M., Maier A. B.: Lack of Knowledge Contrasts the Willingness to Counteract Sarcopenia Among Community-Dwelling Adults. *J. Aging Health*, 2019, 32, 787-794.
- [2] Ballesteros-Pomar M. D., Gajete-Martín L. M., la-Maza B. P.-d., González-Arnáiz E., González-Roza L., Garca-Pérez M. P., González-Alonso V., Garca-González M. A., de Prado-Espinosa R., Cuevas M. J., Fernández-Perez E., Mostaza-Fernández J. L., Cano-Rodríguez I.: Disease-Related Malnutrition and Sarcopenia Predict Worse Outcome in Medical Inpatients: A Cohort Study. *Nutrients*, 2021, 13, 2937.
- [3] Bogucka A., Kopiczko A., Charzewska J.: Sarcopenia: prevalence and its main risk factors in older women. *Anthropol. Rev.*, 2023, 86, 51-66.
- [4] Carfora V., Cavallo C., Catellani P., Giudice T. D., Cicia G.: Why Do Consumers Intend to Purchase Natural Food? Integrating Theory of Planned Behavior, Value-Belief-Norm Theory, and Trust. *Nutrients*, 2021, 13, 1904.
- [5] Chen L.-K., Woo J., Assantachai P., Auyeung T.-W., Chou M.-Y., Iijima K., Jang H. C., Kang L., Kim M., Kim S., Kojima T., Kuzuya M., Lee J. S., Lee S. Y., Lee W.-J., Lee Y., Liang C.-K., Lim J.-Y., Lim W. S., Peng L.-N., Sugimoto K., Tanaka T., Won C. W., Yamada M., Zhang T., Akishita M., Arai H.: Asian Working Group for Sarcopenia: 2019 Consensus Update on Sarcopenia Diagnosis and Treatment. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2020, 21, 300-307.e2.
- [6] Cho Y. J., Lim Y.-H., Yun J. M., Yoon H.-J., Park M.: Sex- and age-specific effects of energy intake and physical activity on sarcopenia. *Sci. Rep.*, 2020, 10.
- [7] Cruz-Jentoft A. J., Baeyens J. P., Bauer J. M., Boirie Y., Cederholm T., Landi F., Martin F. C., Michel J.-P., Rolland Y., Schneider S. M., Topinková E., Vandewoude M., Zamboni M.: Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*, 2010, 39, 412-423.
- [8] Granic A., Sayer A., Robinson S.: Dietary Patterns, Skeletal Muscle Health, and Sarcopenia in Older Adults. *Nutrients*, 2019, 11, 745.
- [9] Kelaiditi E., Jennings A., Steves C. J., Skinner J., Cassidy A., MacGregor A. J., Welch A. A.: Measurements of skeletal muscle mass and power are positively related to a Mediterranean dietary pattern in women. *Osteoporos. Int.*, 2016, 27, 3251-3260.
- [10] Kerstetter J. E., O'Brien K. O., Insogna K. L.: Low Protein Intake: The Impact on Calcium and Bone Homeostasis in Humans. *J. Nutr.*, 2003, 133, 855S-861S.
- [11] Kim J., Lee Y., Kye S., Chung Y.-S., Kim K.-M.: Association Between Healthy Diet and Exercise and Greater Muscle Mass in Older Adults. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2015, 63, 886-892.
- [12] Koyanagi A., Veronese N., Solmi M., Oh H., Shin J. I., Jacob L., Yang L., Haro J. M., Smith L.: Fruit and Vegetable Consumption and Sarcopenia among Older Adults in Low- and Middle-Income Countries. *Nutrients*, 2020, 12, 706.
- [13] Landi F., Calvani R., Tosato M., Martone A., Ortolani E., Saveria G., D'Angelo E., Sisto A., Marzetti E.: Protein Intake and Muscle Health in Old Age: From Biological Plausibility to Clinical Evidence. *Nutrients*, 2016, 8, 295.
- [14] Liu X., Hao Q., Hou L., Xia X., Zhao W., Zhang Y., Ge M., Liu Y., Zuo Z., Yue J., Dong B.: Ethnic Groups Differences in the Prevalence of Sarcopenia Using the AWGS Criteria. *J. Nutr. Health. Aging*, 2020, 24, 665-671.
- [15] Malafarina V., Úriz-Otano F., Iniesta R., Gil-Guerrero L.: Sarcopenia in the elderly: Diagnosis, pathophysiology and treatment. *Maturitas*, 2012, 71, 109-114.

- [16] Marzetti E., Calvani R., Tosato M., Cesari M., Bari M. D., Cherubini A., Collamati A., D'Angelo E., Pahor M., Bernabei R., Landi F.: Sarcopenia: an overview. *Aging Clin. Exp. Res.*, 2017, 29, 11-17.
- [17] Montiel-Rojas D., Nilsson A., Santoro A., Bazzocchi A., de Groot L. C. P. G. M., Feskens E. J. M., Berendsen A. A. M., Madej D., Kaluza J., Pietruszka B., Jennings A., Fairweather-Tait S., Battista G., Capri M., Franceschi C., Kadi F.: Fighting Sarcopenia in Ageing European Adults: The Importance of the Amount and Source of Dietary Proteins. *Nutrients*, 2020, 12, 3601.
- [18] Mziray M., Żuralska R., Siepsiak M., Domagała P.: Sarkopenia – marginalizowany problem wieku podeszłego. *Pielęgniarstwo Polskie*, 2017, 65, 506-513.
- [19] Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie (Dietary Reference Intakes for the Polish population and their application), Jarosz M., Rychlik E., Stoś K., Charzewska J. (red.). Wyd. NIZP-PZH, 2020, s. 62. <https://ncez.pzh.gov.pl/normy-zywienia-2020>
- [20] Pacifico J., Geerlings M. A., Reijnierse E. M., Phassouliotis C., Lim W. K., Maier A. B.: Prevalence of sarcopenia as a comorbid disease: A systematic review and meta-analysis. *Exp. Gerontol.*, 2020, 131, 110801.
- [21] Pang B. W. J., Wee S.-L., Lau L. K., Jabbar K. A., Seah W. T., Ng D. H. M., Tan Q. L. L., Chen K. K., Jagadish M. U., Ng T. P.: Prevalence and Associated Factors of Sarcopenia in Singaporean Adults - The Yishun Study. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2021, 22, 885.e1-885.e10.
- [22] Petermann-Rocha F., Balntzi V., Gray S. R., Lara J., Ho F. K., Pell J. P., Celis-Morales C.: Global prevalence of sarcopenia and severe sarcopenia: a systematic review and meta-analysis. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2021, 13, 86-99.
- [23] Rondanelli M., Rigon C., Perna S., Gasparri C., Iannello G., Akber R., Alalwan T. A., Freije A. M.: Novel Insights on Intake of Fish and Prevention of Sarcopenia: All Reasons for an Adequate Consumption. *Nutrients*, 2020, 12, 307.
- [24] Rong S., Wang L., Peng Z., Liao Y., Li D., Yang X., Nuessler A. K., Liu L., Bao W., Yang W.: The mechanisms and treatments for sarcopenia: could exosomes be a perspective research strategy in the future? *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020, 11, 348-365.
- [25] Strzelecki A., Ciechanowicz R., Zdrojewski Z.: Sarkopenia wieku podeszłego. *Gerontologia Polska*, 2011, 19.
- [26] Tanaka T., Kawahara T., Aono H., Yamada S., Ishizuka S., Takahashi K., Iijima K.: A comparison of sarcopenia prevalence between former Tokyo 1964 Olympic athletes and general community-dwelling older adults. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2021, 12, 339-349.
- [27] Tyrovolas S., Koyanagi A., Olaya B., Ayuso-Mateos J. L., Miret M., Chatterji S., Tobiasz-Adamczyk B., Koskinen S., Leonardi M., Haro J. M.: Factors associated with skeletal muscle mass, sarcopenia, and sarcopenic obesity in older adults: a multi-continent study. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2015, 7, 312-321.
- [28] Yeung S. S., Reijnierse E. M., Pham V. K., Trappenburg M. C., Lim W. K., Meskers C. G., Maier A. B.: Sarcopenia and its association with falls and fractures in older adults: A systematic review and meta-analysis. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019, 10, 485-500.

THE IMPORTANCE OF PROPER NUTRITION IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF SARCOPENIA IN THE ELDERLY

S u m m a r y

Background. Sarcopenia is a disease that primarily affects the elderly, especially women, and is characterized by a gradual loss of muscle and strength. The clinical definition of sarcopenia is defined as a progressive loss of skeletal muscle mass, which carries the risk of physical disability, reduced quality of life and increased mortality.

Results and conclusion. Proper nutrition is essential in both preventing and treating sarcopenia. The intake of total protein and vitamin D, as well as a balanced diet in general, is crucial in the treatment of sarcopenia. It is also indicated that fruit and vegetables, abundant in the Mediterranean and Japanese diets, may also have a protective effect in protecting muscle function and preventing physical disability. Although the research to date has not explained all the causes of sarcopenia, the most important factors that play a significant role in the prevention of sarcopenia therapy have been identified. These are the optimal intake of total protein, including of animal and vegetable origin in appropriate proportions in the amount consistent with needs, and physical activity. In general, eating a balanced diet containing nutrient-rich foods is associated with protection against muscle loss caused by advancing age and physical inactivity.

Key words: sarcopenia, muscle wasting, food; proteins, vegetables, fruit, physical activity ☒

ANNA SADOWSKA-ROCIEK, MAGDALENA SURMA, KONRAD STANASZEK

ANALIZA ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W SERACH WĘDZONYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Tradycyjne sery, w tym wyroby wędzone, są jednymi z najbardziej rozpoznawanych produktów wśród konsumentów, ze względu na swój smak oraz powiązanie z historią danego regionu. Jednocześnie proces wędzenia może być źródłem zanieczyszczenia serów, z uwagi na obecność niektórych toksycznych związków w dymie wędzarniczym. Celem pracy była analiza zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w serach tradycyjnych wędzonych i niewędzonych oraz wędzonych przemysłowych (łącznie 23 próbki). Zawartość WWA (18 związków) oznaczono z wykorzystaniem zmodyfikowanej metody QuECHERS z końcową detekcją metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

Wyniki i wnioski. Sumaryczna zawartość WWA była zróżnicowana i wahała od 119,0 do 257,6 µg/kg w serach tradycyjnych niewędzonych, 137,8-625,1 µg/kg w serach tradycyjnych wędzonych i 131,8-277,7 µg/kg w serach wędzonych przemysłowych. W żadnej z analizowanych próbek serów nie wykryto indeno[1,2,3-cd]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]perylenu, natomiast naftalen, 2-metylnaftalen, 1-metylnaftalen, acenaftylen, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten zidentyfikowano we wszystkich badanych próbkach. Benzo[a]piren został zidentyfikowany w 9 próbkach serów (6/11 próbek serów tradycyjnych wędzonych, 1 próbka sera niewędzonego oraz 2 z 7 próbek serów wędzonych z produkcji przemysłowej), w zakresie 1,5-6,5 µg/kg. Występowanie tzw. markerów WWA stwierdzono zarówno w serach wędzonych jak i niewędzonych, co sugeruje, że zanieczyszczenie badanymi węglowodorami może powstawać już na etapie produkcji surowca przed procesem wędzenia. Nie stwierdzono jednak istotnych statystycznie różnic pomiędzy trzema badanymi grupami serów, zarówno w całkowitej zawartości WWA, jak i sumie 4WWA.

Słowa kluczowe: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, sery wędzone, sery tradycyjne, QuECHERS, związki rakotwórcze

Wprowadzenie

Sery stanowią jedną z najbardziej zróżnicowanych grup przetworów mlecznych, ze względu na różnorodność surowca wykorzystanego do ich wyrobu oraz stosowane procesy technologiczne podczas ich produkcji. Wśród szerokiego asortymentu serów na szczególną uwagę zasługują produkty wytwarzane metodami tradycyjnymi, które są cenione przez konsumentów, z uwagi na niepowtarzalny smak, jakość i powiązanie z historią danego regionu. Produkty te kojarzone są również z obecnością naturalnych składników, z reguły przypisywane im są także liczne właściwości prozdrowotne [6]. Są one najczęściej kupowane przez konsumentów w sprzedaży bezpośredniej, na targowiskach lub też na przydrożnych stoiskach, blisko punktów ich wytwarzania. Sery wędzone, ze względu na swoją popularność, są także produkowane w ilościach przemysłowych, przez koncerny spożywcze obecne na terenie całego kraju.

Polskie sery tradycyjne są najczęściej wytwarzane z niepasteryzowanego mleka krowiego, ale także owczego i koziego. Ich produkcja jest prowadzona zgodnie z wieloletnimi recepturami specyficznymi dla danego regionu, z wykorzystaniem tradycyjnych metod wytwarzania. Niektóre z serów są poddawane procesowi wędzenia, którego pierwotnym celem było konserwowanie żywności i przedłużenie trwałości wyrobu, natomiast obecnie służy głównie nadawaniu pożądanых cech smakowo-zapachowych [2].

Efekt konserwujący wędzenia jest generalnie przypisywany właściwościom przeciwutleniającym i przeciwbakteryjnym związków fenolowych zawartych w dymie wędzarniczym. Jednocześnie wytwarzanie dymu z drewna i węgla drzewnego jest typowym przykładem niecałkowitego spalania materii organicznej, podczas którego powstają wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). W wyniku kontaktu żywności z dymem WWA mogą zostać przeniesione do wędzonej żywności [18]. Niezależnie od wpływu wędzenia na ich obecność w produktach spożywczych związki te mogą przedostawać się do roślin oraz żywności pochodzenia zwierzęcego wskutek zanieczyszczenia środowiska, a więc ich obecności w glebie, powietrzu i wodzie [7]. Dodatkowo, WWA charakteryzują się dużą zdolnością transportu w środowisku, stąd też ich obecność stwierdzono nawet na terenach mniej uprzemysłowionych, z dala od miejsca ich pierwotnego powstawania. W żywności pochodzenia zwierzęcego mogą znaleźć się jako wynik pobrania wraz z zanieczyszczonym pokarmem roślinnym lub glebą podczas wypasu [16]. Wśród ponad stu związków należących do grupy WWA piętnaście uważanych jest za substancje cytotoksyczne, genotoksyczne, teratogenne, immunotoksyczne, mutagenne i rakotwórcze [18]. Głównie właściwości rakotwórcze przypisuje się benzo[a]pirenowi, jednak mimo braku potwierdzenia działania pozostałych związków z tej grupy zwraca się uwagę, że mogą one działać synergistycznie i potęgować działanie kancerogenne. W Unii Europejskiej oprócz zawartości benzo[a]pirenu w wybranych produktach spożywczych, wymienionych w Rozporządzeniu

1881/2006 [12], monitorowana jest suma zawartości czterech związków (Σ 4WWA: benzo[a]antracenu, chryzenu, benzo[b]fluorantenu i benzo[a]pirenu).

Dotychczasowe badania obecności WWA w serach wędzonych wskazują na dość duże zróżnicowanie zawartości tych związków, w zależności od pochodzenia próbek. Wahwały się one od 0,73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [11], do nawet 4010 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [8]. Wskazuje to na potrzebę dalszych badań w celu kontroli ich obecności w żywności.

Celem niniejszej pracy była analiza związków z grupy WWA w próbkach serów tradycyjnych wędzonych pochodzących z prywatnego handlu detalicznego oraz z produkcji przemysłowej. Dodatkowo przebadano również sery niepoddawane procesowi wędzenia w celu porównania i oszacowania źródeł WWA w tego typu produktach.

Material i metody badań

Material badawczy

W badaniach analizie poddano 23 próbki serów, w tym 11 próbek serów wędzonych oraz 5 próbek serów niewędzonych pochodzących ze sprzedaży bezpośredniej (rejon Beskidu Makowskiego: lokalne targowiska, przydrożne stoiska, szałas w górach) oraz 7 próbek serów wędzonych produkcji przemysłowej. Sery zakupione bezpośrednio od wytwórców były wytworzone z mleka krowiego lub mieszaniny mleka krowiego i owczego (według deklaracji osób sprzedających), natomiast sery przemysłowe wyprodukowano z mleka krowiego.

Metodyka

Zawartość WWA (18 związków) oznaczono przy użyciu zmodyfikowanej metody QuECHERS, opartej na ekstrakcji związków z próbek za pomocą acetonitrylu, oczyszczania z wykorzystaniem dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (d-SPE), a następnie analizy metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS, Varian 4000MS Agilent Technologies) według procedury analitycznej opracowanej i walidowanej we wcześniejszych pracach [13,15].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z wykorzystaniem testu Kruskala-Wallisa i porównań wielokrotnych (ze względu na brak spełnienia założenia o normalności rozkładu danych) oraz testu T dla prób zależnych. Hipotezy weryfikowano na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Wszystkie obliczenia wykonano w programie Statistica 13.1 (Dell Inc.).

Wyniki i dyskusja

Obecność związków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wykryto we wszystkich badanych próbkach (Tabela 1 ÷ 3). Fenantren charakteryzował się najwyższymi zawartościami spośród wszystkich związków należących do

WWA ($38,2 \div 243,1 \mu\text{g/kg}$), we wszystkich badanych serach tradycyjnych wędzonych i 6 z 7 wędzonych serów przemysłowych. W 4 z 5 próbek serów tradycyjnych niepoddanych procesowi wędzenia najwyższe wartości stwierdzono dla 2-metylnaftalenu, co sugeruje, że jego obecność była spowodowana zanieczyszczeniami pochodzenia środowiskowego. Hipotezę tę potwierdza stosunek zawartości 2-metylnaftalenu do zawartości fenantrenu, który, jeśli przyjmuje wartość większą niż 1, wskazuje na środowiskowe zanieczyszczenie próbki WWA [17]. Wysoką zawartość fenantrenu i 2-metylnaftalenu w próbkach serów wędzonych zaobserwowano we wcześniejszych badaniach [3, 8, 9] i była ona porównywalna do zakresu uzyskanego w niniejszej pracy.

Benzo[a]piren został zidentyfikowany w 9 próbkach serów (6/11 próbek serów tradycyjnych wędzonych, 1 próbka sera niewędzonego oraz 2 z 7 próbek serów wędzonych z produkcji przemysłowej), w zakresie $1,5 \div 6,5 \mu\text{g/kg}$. Wyniki te są zbieżne z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów [1,7,9]. W pozostałych pracach zawartość benzo[a]pirenu była niższa i nie przekraczała wartości $1,52 \mu\text{g/kg}$ [5], jedynie w pracy Migdała i wsp. [8] w jednym z badanych serów zawartość tego związku osiągnęła wartość $17 \mu\text{g/kg}$. W serach niewędzonych nie zaobserwowano obecności benzo[a]antracenu, jednego z markerów WWA w żywności, który był z kolei obecny w większości pozostałych serów. Dwa inne markery WWA (chryzen i benzo[b]fluoranten) także były obecne w badanych próbkach, jednak nie stwierdzono widocznej zależności między typem sera a obecnością i zawartością danego związku. W żadnej z badanych próbek serów nie wykryto natomiast obecności trzech najcięższych węglowodorów, tj. indeno[c,d]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu oraz benzo[g,h,i]peryenu. Obliczony stosunek zawartości benzo[a]antracenu do sumy zawartości benzo[a]antracenu i chryzenu, który dla próbek serów niewędzonych był niższy niż 0,2 [17], potwierdził środowiskowe pochodzenia węglowodorów w tych próbkach.

Sumaryczna zawartość WWA była zróżnicowana i wahała od 119,0 do $257,6 \mu\text{g/kg}$ w serach tradycyjnych niewędzonych, $137,8 \div 625,1 \mu\text{g/kg}$ w serach tradycyjnych wędzonych i $131,8 \div 277,7 \mu\text{g/kg}$ w serach wędzonych przemysłowych (Rys. 1). Jest to wartość zdecydowanie wyższa od dotychczasowo publikowanych wyników. Polak-Śliwińska i wsp. [10] wykazali, że sumaryczna zawartość WWA (15 związków) w 10 próbkach sera wędzonego wahała się w granicach $28,3 \div 53,3 \mu\text{g/kg}$, natomiast niewędzonych – $13,2 \div 18,5 \mu\text{g/kg}$. Wyniki uzyskane przez Gula i wsp. [4] były jeszcze niższe i nie przekraczały sumarycznej zawartości 9 WWA na poziomie $39 \mu\text{g/kg}$. W pracach [1, 14] sumaryczna zawartość WWA osiągnęła wartość odpowiednio $211,8 \mu\text{g/kg}$ oraz $176 \mu\text{g/kg}$, co w przypadku niniejszych badań jest zbliżone jedynie do wyników otrzymanych dla próbek sera niewędzonego. Najwyższą jak dotąd, sumaryczną zawartość WWA w serach wędzonych raportował Migdał i wsp. [8]

WWA PAHs	1w	2w	3w	4w	5w	6w	7w	8w	9w	10w	11w
Benzo[k]fluoranten	<LOD	<LOD	<LOD	5.2 ^a ± 0.3	1.1 ^b ± 0.1	<LOD	3.4 ^c ± 0.3	5.2 ^a ± 0.7	2.0 ^b ± 0.4	<LOD	1.0 ^b ± 0.2
Benzo[k]fluoranthene	<LOD	<LOD	<LOD	6.5 ^b ± 0.3	4.7 ^a ± 0.3	<LOD	3.1 ^c ± 0.5	<LOD	4.5 ^a ± 0.5	<LOD	1.5 ^d ± 0.2
Benzo[a]piren	<LOD	4.4 ^a ± 0.4	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[a]pyrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Indeno[1,2,3-c,d]piren	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo[a,h]antracen	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo[a,h]anthracene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[g,h,i]perylene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[g,h,i]perylene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Objasnienia /Explanatory notes :

Te same małe litery w wierszach oznaczają brak różnic istotnych statystycznie między wynikami (test Kruskala-Wallis, $p > 0.05$) / The same superscript letters in a line indicate no statistically significant differences between the results (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$)

Tabela 2. Zawartość WWA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) w serach tradycyjnych niewędzonych ($n = 3$, średnia \pm odchylenie standardowe)Table 2. PAH content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in traditional unsmoked cheeses ($n = 3$, mean \pm standard deviation)

WWA PAHs	1n	2n	3n	4n	5n
Naftalen Naphthalene	6.4 ^a \pm 0.5	10.6 ^b \pm 0.3	7.0 ^{a,c} \pm 0.7	7.5 ^c \pm 0.3	5.4 ^a \pm 0.8
2-metylnaftalen 2-methylnaphthalene	25.4 ^a \pm 0.1	84.5 ^b \pm 0.7	60.0 ^c \pm 0.2	69.0 ^d \pm 0.3	9.6 ^e \pm 0.3
1-metylnaftalen 1-methylnaphthalene	18.5 ^a \pm 0.6	44.1 ^b \pm 0.7	33.5 ^c \pm 0.2	41.5 ^d \pm 0.8	6.6 ^e \pm 0.5
Acenaftylen Acenaphthylene	10.7 ^a \pm 0.4	32.4 ^b \pm 0.5	15.1 ^c \pm 0.3	18.0 ^d \pm 0.2	7.3 ^e \pm 0.4
Acenaften Acenaphthene	12.9 ^a \pm 0.8	15.4 ^b \pm 0.3	16.3 ^{b,c} \pm 0.7	16.5 ^c \pm 0.4	11.4 ^d \pm 0.5
Fluoren Fluorene	6.4 ^a \pm 0.1	10.0 ^b \pm 0.8	18.6 ^c \pm 0.7	6.2 ^a \pm 0.5	13.6 ^d \pm 0.6
Fenantren Phenanthrene	44.0 ^a \pm 0.2	41.6 ^b \pm 0.7	47.3 ^c \pm 0.2	51.2 ^d \pm 0.2	38.2 ^e \pm 0.6
Antracen Anthracene	12.8 ^a \pm 0.3	12.8 ^a \pm 0.2	9.9 ^b \pm 0.2	17.3 ^c \pm 0.2	12.6 ^a \pm 0.2
Fluoranten Fluoranthene	5.1 ^a \pm 0.6	3.7 ^b \pm 0.3	3.9 ^b \pm 0.4	5.1 ^a \pm 0.4	4.4 ^{a,b} \pm 0.3
Piren Pyrene	0.8 ^a \pm 0.1	<LOD	0.5 ^b \pm 0.1	<LOD	0.5 ^b \pm 0.1
Benzo[a]antracen Benzo[a]anthracene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Chryzen Chrysene	<LOD	2.5 ^a \pm 0.3	<LOD	2.9 ^a \pm 0.5	5.7 ^b \pm 0.6
Benzo[b]fluoranten Benzo[b]fluoranthene	<LOD	<LOD	1.9 ^a \pm 0.2	4.0 ^b \pm 0.4	<LOD
Benzo[k]fluoranten Benzo[k]fluoranthene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[a]piren Benzo[a]pyrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3.7 \pm 0.6
Indeno[c,d]piren Indeno[c,d]pyrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo[a,h]antracen Dibenzo[a,h]anthracene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[g,h,i]perylene Benzo[g,h,i]perylene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Objaśnienia /Explanatory notes:

Te same małe litery w wierszach oznaczają brak różnic istotnych statystycznie między wynikami (test Kruskala-Wallisa, $p > 0.05$) / The same superscript letters in a line indicate no statistically significant differences between the results (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$)

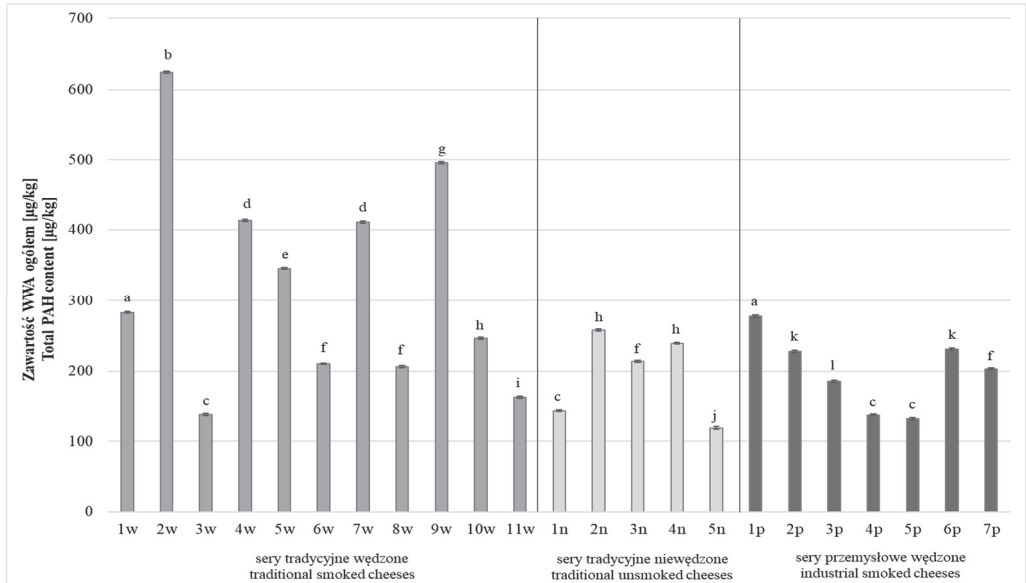
Tabela 3. Zawartość WWA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) w serach wędzonych przemysłowych ($n = 3$, średnia \pm odchylenie standardowe)Table 3. PAH content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in industrial smoked cheeses ($n = 3$, mean \pm standard deviation)

WWA PAHs	1p	2p	3p	4p	5p	6p	7p
Naftalen Naphthalene	7.4 ^a \pm 0.2	6.5 ^{ab} \pm 0.5	6.1 ^b \pm 0.2	5.3 ^c \pm 0.4	5.8 ^{bc} \pm 0.3	5.1 ^c \pm 0.2	6.0 ^b \pm 0.3
2-metylonaftalen 2-methylnaphthalene	87.6 ^a \pm 0.8	25.9 ^b \pm 0.3	9.2 ^c \pm 0.3	7.5 ^d \pm 0.1	6.4 ^e \pm 0.6	6.8 ^f \pm 0.6	30.6 ^g \pm 0.2
1-metylonaftalen 1-methylnaphthalene	34.9 ^a \pm 0.2	12.4 ^b \pm 0.8	4.5 ^c \pm 0.4	3.1 ^d \pm 0.2	3.8 ^e \pm 0.2	2.0 ^f \pm 0.3	12.4 ^b \pm 0.3
Acenaftylen Acenaphthylene	24.3 ^a \pm 0.5	29.4 ^b \pm 0.2	19.6 ^c \pm 0.5	9.4 ^d \pm 0.2	9.0 ^d \pm 0.2	19.5 ^c \pm 0.6	22.0 ^c \pm 0.3
Acenaften Acenaphthene	14.2 ^a \pm 0.5	17.4 ^b \pm 0.5	12.3 ^c \pm 0.7	9.9 ^d \pm 0.2	11.6 ^c \pm 0.3	<LOD	14.2 ^a \pm 0.4
Fluoren Fluorene	11.2 ^a \pm 0.4	11.2 ^a \pm 0.6	21.6 ^b \pm 0.4	15.8 ^c \pm 0.7	11.3 ^a \pm 0.5	17.1 ^c \pm 0.7	12.3 ^a \pm 0.5
Fenantren Phenanthrene	66.2 ^a \pm 0.3	77.2 ^b \pm 0.4	74.2 ^c \pm 0.7	56.7 ^d \pm 0.3	48.5 ^e \pm 0.6	118.2 ^f \pm 0.2	86.1 ^g \pm 0.6
Antracen Anthracene	18.6 ^a \pm 0.8	14.0 ^b \pm 0.5	16.9 ^a \pm 0.8	12.5 ^c \pm 0.3	7.4 ^d \pm 0.6	31.8 ^e \pm 0.3	11.8 ^f \pm 0.2
Fluoranten Fluoranthene	10.1 ^a \pm 0.3	7.4 ^b \pm 0.8	6.7 ^b \pm 0.2	7.6 ^b \pm 0.6	5.1 ^c \pm 0.3	13.8 ^d \pm 0.2	7.5 ^b \pm 0.5
Piren Pyrene	1.0 ^a \pm 0.1	<LOD	1.1 ^a \pm 0.1	0.7 ^b \pm 0.1	0.8 ^b \pm 0.1	1.1 ^a \pm 0.1	0.6 ^b \pm 0.1
Benzo[a]antracen Benzo[a]anthracene	<LOD	<LOD	11.6 ^a \pm 0.3	8.0 ^b \pm 0.3	12.1 ^a \pm 0.2	4.8 ^c \pm 0.4	<LOD
Chryzen Chrysene	<LOD	<LOD	<LOD	0.5 ^a \pm 0.1	6.1 ^b \pm 0.6	1.5 ^c \pm 0.3	<LOD
Benzo[b]fluoranten Benzo[b]fluoranthene	<LOD	10.2 ^a \pm 0.4	1.4 ^b \pm 0.2	<LOD	2.5 ^c \pm 0.2	7.6 ^d \pm 0.4	<LOD
Benzo[k]fluoranten Benzo[k]fluoranthene	<LOD	13.7 ^a \pm 0.7	0.7 ^b \pm 0.1	<LOD	1.4 ^c \pm 0.3	2.0 ^{bc} \pm 0.4	<LOD
Benzo[a]piren Benzo[a]pyrene	2.0 ^a \pm 0.4	2.5 ^a \pm 0.2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Indeno[c,d]piren Indeno[c,d]pyrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo[a,h]antracen Diben- zo[a,h]anthracene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo[g,h,i]perylene Benzo[g,h,i]perylene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Objaśnienia /Explanatory notes :

Te same małe litery w wierszach oznaczają brak różnic istotnych statystycznie między wynikami (test Kruskala-Wallisa, $p > 0.05$) / The same superscript letters in a line indicate no statistically significant differences between the results (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$)

(34,8 ÷ 4010 µg/kg). Należy jednak zauważyć, że poszczególni autorzy analizowali różną liczbę związków należących do WWA (od 9 do 16), co wpływało ostatecznie na uzyskane wyniki.



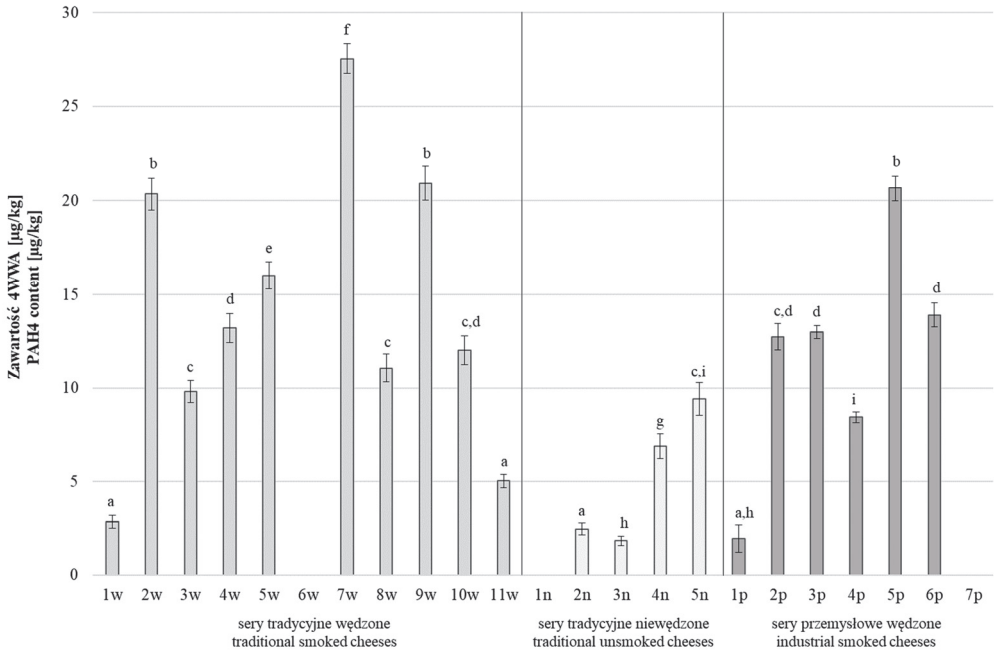
Rys. 1. Sumaryczna zawartość WWA w badanych próbkach serów

Fig. 1. Total PAH content in the analyzed cheese samples

Objaśnienia /Explanatory notes :

Te same małe litery oznaczają brak różnic istotnych statystycznie między wynikami (test Kruskala-Wallis, $p > 0.05$) / The same superscript letters indicate no statistically significant differences between the results (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$)

Najwyższą zawartość sumy 4 WWA stwierdzono w próbce sera tradycyjnego wędzonego (27,6 µg/kg, Rys. 2). Podobne wyniki zostały zaobserwowane przez Migdała i wsp. [7]. Zazwyczaj suma 4WWA w badanych próbkach serów wędzonych była niższa i nie przekraczała 5 µg/kg [5, 10, 11]. Zdecydowanie wyższe wartości otrzymano jedynie w pracach Migdała i wsp. [8] ($<1,31 \div 119$ µg/kg) oraz Fasano i wsp. ($0,08 \div 42$ µg/kg) [1].



Rys. 2. Zawartość 4WWA w badanych próbkach serów

Fig. 2. PAH4 content in the analyzed cheese samples

Objaśnienia /Explanatory notes :

Te same małe litery oznaczają brak różnic istotnych statystycznie między wynikami (test Kruskala-Wallis, $p > 0.05$) / The same superscript letters indicate no statistically significant differences between the results (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$)

Średnia zawartość WWA ogółem w serach wędzonych tradycyjnie wynosiła 322 µg/kg, w niewędzonych – 195 µg/kg, natomiast w serach wędzonych z produkcji przemysłowej – 199 µg/kg. Dla sumy 4WWA wartości te przedstawiały się następująco: 12,6 µg/kg; 4,1 µg/kg oraz 10,1 µg/kg. Nie stwierdzono jednak istotnych statystycznie różnic (test Kruskala-Wallis, $p > 0,05$) pomiędzy trzema badanymi grupami serów, zarówno w całkowitej zawartości WWA, jak i sumie 4WWA, co wynika ze znacznie zróżnicowanych wyników w obrębie poszczególnych grup. Podobne porównywania wartości dla serów wędzonych przemysłowo i tradycyjnie przeprowadzono w pracach Gula i wsp. [4, 5]. Stwierdzili oni istotnie wyższą zawartość WWA w próbkach serów wędzonych tradycyjnie. Z kolei Polak-Śliwińska i wsp. [10] odnotowali wyższe zawartości WWA w próbkach serów wędzonych niż niewędzonych.

W obrębie produktów pochodzących ze sprzedaży bezpośredniej próbki serów wędzonych oznaczone jako 1w ÷ 5w oraz serów niewędzonych (1n ÷ 5n) pochodziły od tych samych dostawców i – według deklaracji sprzedawców – różniły się jedynie zastosowaniem lub nie procesu wędzenia gotowego surowca. Umożliwiło to oszaco-

wanie wpływu wędzenia na zawartość WWA w próbkach serów wędzonych. W przypadku sumarycznej zawartości WWA nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic między serami wędzonymi a niewędzonymi, natomiast suma 4WWA była znacząco wyższa w serach wędzonych (test T dla prób zależnych, $p \leq 0,05$).

Rozporządzenie 1881/2006 regulujące obecność WWA w żywności nie obejmuje serów wędzonych. Dla innych produktów pochodzenia zwierzęcego poddawanych procesowi wędzenia poziom benzo[a]pirenu nie powinien przekraczać $2 \mu\text{g}/\text{kg}$, natomiast sumy 4WWA – $12 \mu\text{g}/\text{kg}$. Zakładając podobne poziomy dla serów wędzonych, 9 spośród 23 badanych próbek charakteryzowało się zawartością wyższą niż $12 \mu\text{g}/\text{kg}$, a w przypadku benzo[a]pirenu 7 próbek przekroczyło poziom $2 \mu\text{g}/\text{kg}$.

Wnioski

1. Badane próbki serów charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków należących do grupy WWA, jednak w żadnej z próbek nie wykryto indeno[1,2,3-cd]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu benzo[g,h,i]perylenu.
2. Tzw. markery WWA, czyli benzo[a]piren, chryzen, benzo[a] antracen i benzo[b]fluoranten wykryto zarówno w serkach wędzonych jak i niewędzonych, co wskazuje na zanieczyszczenie surowca związkami WWA ze źródeł środowiskowych. Nie stwierdzono jednak istotnych statystycznie różnic pomiędzy trzema badanymi grupami serów, zarówno w całkowitej zawartości WWA, jak i sumie 4WWA.
3. Aktualnie w polskim prawie brakuje przepisu mówiącego o maksymalnych zawartościach WWA w serkach wędzonych, natomiast ze względu na fakt, iż cieszą się one coraz większą popularnością w naszym kraju, należy podjąć dalsze badania w celu wyznaczenia maksymalnej zawartości WWA w tych produktach.

Praca zrealizowana ze środków finansowych Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego (SUB/2022-70014-D020).

Literatura

- [1] Fasano E., Esposito F., Scognamiglio G., Amodio R.C., Cirillo T.: Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked buffalo mozzarella cheese produced in Campania Region, Italy. *J. Sci. Food Agric.*, 2016, 96, 1704-1708.
- [2] Filipczak-Fiutak M., Pluta-Kubica A., Domagała J., Duda I., Migdał W.: Nutritional value and organoleptic assessment of traditionally smoked cheeses made from goat, sheep and cow's milk. *PLoS ONE*, 2021, 16, 0254431.
- [3] Guillén M.D., Palencia G., Ibargoitia M.L., Fresno M., Sopolana P.: Contamination of cheese by polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoking. Influence of the position in the smoke-house on the contamination level of smoked cheese. *J. Dairy Sci.*, 2011, 94, 1679-1690.

- [4] Gul O., Aydemir O., Atalar I., Mortas M., Dervisoglu M.: Oven cooking as alternative to smoking: evaluation of physicochemical, microbiological, textural and sensory properties of circassian cheese during storage and determination of PAH contents. *Carpathian J. Food Sci.*, 2019, 11(1), 149-165.
- [5] Gul O., Dervisoglu M., Mortas M., Aydemir O., Ilhan E., Aksehir K.: Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons in Circassian cheese by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Food Compos. Anal.*, 2015, 37, 82-86.
- [6] Knysz P., Gondek M., Pyz-Łukasik R., Ziomek M., Drozd Ł., Paszkiewicz W., Szkucik K.: Chemical composition and nutritional quality of short-ripened rennet cheeses produced by traditional methods. *Med. Weter.*, 2018, 74, 5971-2018.
- [7] Migdał W., Walczycka M., Zając M., Tkaczewska J., Kulawik P., Węsierska E., Migdał Ł.: The chemical composition and quality of traditionally smoked polish regional products, produced from of raw material obtained from native animal breed. *J. Hyg. Eng. Des.*, 2020, 33, 12-21.
- [8] Migdał W., Zając M., Walczycka M., Węsierska E., Tkaczewska J., Kulawik P., Migdał Ł.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w produktach wędzonych tradycyjnie, wyprodukowanych z surowców pozyskiwanych od rodzimych ras zwierząt. *Med. Weter.* 2020, 76 (8), 463-475.
- [9] Pluta-Kubica A., Filipczak-Fiutak M., Domagała J., Duda I., Migdał W.: Contamination of traditionally smoked cheeses with polycyclic aromatic hydrocarbons and biogenic amines. *Food Control*, 2020, 112, 107115.
- [10] Polak-Śliwińska M., Paszczyk B., Śliwiński M.: Evaluation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Cheeses Made in Poland by HPLC Method. *Molecules*, 2022, 27, 6909.
- [11] Racovita R.C., Secuianu C., Israel-Roming F.: Quantification and risk assessment of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in retail smoked fish and smoked cheeses. *Food Control*, 2021, 121, 107586.
- [12] Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych *Dzienniki UE. Dz.U.U.E.L.2006.364.*
- [13] Slámová T., Sadowska-Rociek A., Fraňková A., Surma M., Banout J.: Application of QuEChERS-EMR-Lipid-DLLME method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food of animal origin. *J. Food Compos. Anal.*, 2020, 87, 103420.
- [14] Suchanová M., Hajšlová J., Tomaniová M., Kocourek V., Babička L.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheese. *J. Sci. Food Agric.*, 2008, 88, 1307-1317.
- [15] Surma M., Sadowska-Rociek A., Ciešlik E.: Assessment of thermal processing contaminant levels in dried and smoked fruits. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244, 1533-1543.
- [16] Surówka K., Rzepka M., Maciejaszek I., Tesarowicz I., Zawi A., Bana J.: jakość i bezpieczeństwo serków wędzonych wytwarzanych w regionie Podhala. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2016, 4 (107), 102-114.
- [17] Tobiszewski M., Namieśnik J.: PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environ. Pollut.*, 2012, 162, 110-119.
- [18] Zachara A., Juszczak L.: Contamination of food with polycyclic aromatic hydrocarbons – legal requirements and monitoring. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2016, 106, 5-20.

AN ANALYSIS OF THE CONTENT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN SMOKED CHEESES

S u m m a r y

Background. Traditional cheeses, including smoked products, are one of the most recognizable products among consumers, due to their taste and relationship with regional history. However, the smoking process can be a source of cheese contamination due to the presence of some toxic compounds in smoke. The aim of the study was to analyze the content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditional smoked and non-smoked cheeses, as well as in industrial smoked cheeses (23 samples in total). The content of PAHs (18 compounds) was determined using the modified QuEChERS method with final detection by gas chromatography coupled with mass spectrometry.

Results and conclusion. The total PAH content varied and ranged from 119.0 to 257.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in traditional non-smoked cheeses, 137.8 \div 625.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in traditional smoked cheeses and 131.8 \div 277.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in industrial smoked cheeses. Indeno[1,2,3-c,d]pyrene, dibenzo[a,h]anthracene, benzo[g,h,i]perylene were not detected in any of the analyzed cheese samples, while naphthalene, 2-methylnaphthalene, 1-methylnaphthalene, acenaphthylene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene were identified in all the tested samples. Benzo[a]pyrene was identified in nine cheese samples (6/11 samples of traditional smoked cheeses, one sample of non-smoked cheese and two out of seven samples of smoked cheeses from industrial production), in the range of 1.5 \div 6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The occurrence of the so-called PAH markers was found in both smoked and non-smoked cheeses, which suggests that contamination with the hydrocarbons being examined might occur as early as at the raw material production stage, before the smoking process. However, no statistically significant differences were found between the three groups of cheeses, both in the total PAH and the PAH4 sum.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, smoked cheeses, regional cheeses, QuEChERS, cancerogenic compounds ☒

MICHAŁ MIŁEK, MONIKA KLOC, MAŁGORZATA DŻUGAN

THE CONTENT OF POLYPHENOLS AND CAFFEINE IN SPENT COFFEE GROUNDS OBTAINED FROM VARIOUS HOME BREWING METHODS

Summary

Background. Grounds generated during coffee brewing as waste produced in the world in millions of tons per year seem to be an interesting source of bioactive substances for further use. The aim of the study was to evaluate the content of bioactive components in coffee grounds obtained from coffee brewing using popular methods. Coffee grounds obtained as a result of brewing Arabica coffee using five methods: pouring, drip, crucible, coffee maker and espresso machine were tested. The content of phenolic acids and total phenols, as well as antioxidant activity (by means of DPPH[•] and FRAP methods) and caffeine (for the first time by means of high-performance thin layer chromatography (HPTLC) technique) were assessed.

Results and conclusion. A coffee brewing method significantly affects the residue of bioactive compounds in grounds. The results obtained allow to conclude that the methods in which the contact of a ground grain with water is short, and a grain is coarsely ground, leave the most polyphenols and caffeine in coffee grounds. Such techniques were those using a drip and espresso machine (total phenolic content up to 12.29 and 14.88 mg gallic acid equivalents/g, respectively) and pouring in the case of caffeine (21 mg/g). In turn, coffee grounds obtained from brewing coffee in a crucible, in which most of the determined substances were extracted into the infusion, had the least bioactive compounds. Out of all the extraction systems being evaluated, aqueous ethanol (50 %) was indicated as the most effective one. The use of spent coffee grounds as a source of bioactive substances may be a valuable way to valorize large amounts of gastronomic waste.

Keywords: antioxidant activity, brewing methods, caffeine, coffee grounds, HPTLC

Introduction

The multitude of bioactive substances contained in coffee beans determines the multidirectional effect of coffee drinks, both on well-being and concentration, as well as on the body's efficiency and health. Coffee beans have a stimulating effect, and due

to polyphenolic compounds contained in them, they have a health-promoting effect on the body. Caffeine contained in them has the effect of stimulating the rate of metabolism by increasing fat oxidation [2]. The benefits of consuming even a small amount of coffee determine its popularity and a widely developed culture of drinking coffee beverages.

The preparation of coffee, whether in cafés, households or in industrial processing plants, entails the need to manage or dispose of waste from the production of beverages, concentrates or other products that require coffee beans to be produced. It is currently estimated that 6 million tons of coffee grounds are produced annually worldwide [11], of which about 50 % comes from the industrial production of instant coffee and coffee shops, and the rest from the home preparation of beverages [17]. Therefore, two main sources of coffee grounds can be distinguished: the industry and gastronomy, as well as households, which differ in a technology used and, consequently, in the characteristics of generated waste. Due to the high content of organic bioactive ingredients in spent coffee grounds, they can be used as food additives after prior cleaning and appropriate preparation, e.g. by the extraction of appropriate compounds.

According to Balzano et al. [4], the fractionation of coffee grounds could contribute to increasing their usefulness in the food industry. For example, an isolated oil fraction could be used for biotech ethanol production, whereas carbohydrates and crude fiber would be an excellent substrate for fermentation by colon microbiota, producing anti-inflammatory short-chain fatty acids [15]. Campos-Vega et al. [8] indicate the potential cholesterol-lowering effect of unsaturated acids isolated from coffee grounds, which could help prevent heart disease. In turn, Diaz de Ojalora et al. [9] investigated the indirect nutritional value of used coffee grounds as a concentrate additive to the feed of dairy sheep, which resulted in increased milk yield and concentration of macronutrients such as protein and fat in milk. Coffee grounds extracts rich in antioxidants and antimicrobial compounds can be used as natural preservatives to extend the shelf life of certain products. Gemechu [12] cites an example of inhibition of lipid peroxidation in minced pork after adding an ethanol extract of coffee grounds. In a study by Monente et al. [19], the authors proved the antimicrobial effect of ethanol extracts of used coffee grounds, mainly by inhibiting the growth of gram-positive bacteria. In his article, Gemechu [12] draws attention to the possibility of using dietary fiber purified and isolated from coffee grounds, which could be an addition to slimming preparations. Another study indicated the extraction of dietary fiber as an opportunity to recover other nutrients and non-nutrients, such as proteins and compounds with antioxidant activity [8].

All the properties of spent coffee grounds tested so far can be the basis for using this raw residual material as a potential source of bioactive compounds, thus becoming an interesting and promising food ingredient. The aim of the study was to determine

the content of bioactive compounds remaining in coffee grounds after brewing coffee using various methods available at home.

Material and methods

Chemicals and reagents

All chemical reagents, unless stated otherwise, were purchased from Chempur (Piekary Śląskie, Poland).

Preparation of coffee grounds

Ten grams of freshly ground (MK-06M electric grinder, MPM, Milanówek, Poland) coffee Barista Espresso coffee (100 % Arabica; Tchibo) was used to obtain the grounds, using five various brewing methods.

Coffee maker: Brewing coffee using a coffee maker was done as follows: the bottom water tank of the coffee maker was filled with cold water so as not to overflow the level of the safety valve (200 cm³). Then, two teaspoons of freshly ground coffee (approx. 10 g) were poured into the coffee container, the parts of the coffee maker were screwed together and placed on the burner on medium fire.

Drip: the ground coffee was placed in the filter; a small amount of water was first poured so as to cover the ground coffee and the whole thing was left for 30 seconds. Coffee was then poured in circular motions, taking care not to pour water over the walls of the filter. Water was added twice successively so as not to leave the ground coffee beans without contact with water. The entire coffee brewing process took about three minutes.

Crucible: A copper crucible with a long handle was used for the experiment, into which 10 g of freshly, finely ground coffee was poured, 200 cm³ of cold water was poured over and unrefined cane sugar was added in the amount of 10 g. The whole thing was thoroughly mixed and placed on a burner over low heat. The mixture prepared in this manner was heated until the solution rose and foamed, and the crucible was removed from the heat immediately after the solution began to bubble in a characteristic way.

Espresso machine: The Saeco Minuto HD8761 automatic espresso machine (Saeco, Gaggio Montano, Italy) was used, which is designed for the preparation of coffee-espresso. The machine is equipped with a ceramic coffee grinder with adjustable grinding degree, which in turn will allow the use of whole grains in the cooking process. Features: power 1850 W, pressure 15 bar, volume water tank 1.8 dm³, coffee container 250 g, self-cleaning system. Using this method, 35 cm³ of infusion was obtained from 10 g of coffee.

Pouring hot water: Water in a kettle was boiled, then left for 3 min. to cool down to approx. 94 °C. In the meantime, about 10 g of medium-ground coffee beans were

poured into the glass, and then 200 cm³ of water at the right temperature was poured over it. Coffee was brewed for two - three minutes, then poured through a sieve to remove the grounds. The spent grounds obtained from all coffee brewing methods were dried in a laboratory dryer (40 °C; SLN 35 Simple, POL-EKO, Wodzisław Śląski, Poland) for five hours, to water content not exceeding 3 % (assessed by a weight method) and extracted for further determinations.

Coffee ground extraction

Three types of coffee grounds extracts were prepared: aqueous, aqueous- ethanol (50 %) and ethanolic (95 % vol). In each case, 10 ml of solvent was poured over 2 g of dry grounds, which were then extracted in an ultrasonic bath (700 W; Sonic-10, Polsonic, Warszawa, Poland) for 20 minutes. The extracts were filtered through paper and used for further determinations.

Antioxidant capacity and polyphenols content

Total phenolic content (TPC) was determined according to Singleton and Rossi [23] with modification, enabling measurement using a microplate reader. Briefly, 20 μ l of 40-times diluted extract were pipetted into microplate wells, then 100 μ l of 10 % Folin-Ciocalteu reagent and 80 μ l of 7.5 % Na₂CO₃ solution were added. The plate was incubated for 1 hour in the dark, then the absorbance was measured at 760 nm using EPOCH2 microplate reader (Biotek, Winooski, VT, USA). The results were expressed in mg of gallic acid equivalents (GAE) per gram of coffee grounds, using a calibration curve ($y = 0.3364 \cdot x$, $r^2 = 0.9914$).

The determination of phenolic acids by the Arnov method was based on the methodology described by Kulichova et al. [14]. Briefly, 30 μ l of 10-times diluted sample were pipetted into a spectrophotometric plate, then 150 μ l of distilled water, 30 μ l of 0.5 M HCl, 30 μ l of Arnov reagent, 30 μ l of 1 M NaOH and 30 μ l of distilled water was added. The absorbance of the samples was measured immediately in a microplate reader (EPOCH 2, Biotek) at a wavelength of 490 nm. The total phenolic acid content was calculated using the calibration curve ($y = 0.0446 \cdot x$, $R^2 = 0.9873$) and expressed in mg of caffeic acid per 1 g of coffee grounds.

The determination of the antioxidant activity of coffee grounds using the FRAP method was carried out according to Bertoneclj et al. [5], modified as follows: 20 μ l of 40-times diluted sample was introduced on a microplate, 180 μ l of FRAP reagent was added and incubated for 10 min. at 37 °C. The sample plate was then placed in a microplate reader (EPOCH 2, Biotek) to measure the absorbance of the test samples at a wavelength of 593 nm. The absorbance value of the samples was calculated using the calibration curve ($y = 0.1523 \cdot x$, $r^2 = 0.9995$). The results obtained were expressed in μ mol of Trolox per 1 g of the sample of the tested coffee grounds.

The determination of the antiradical activity by the DPPH[•] method was performed according to the Blois [6] method, modified for use in multi-well plates. Briefly, 20 µl of the tested extracts (40-times diluted) were introduced on a microplate, 180 µl of DPPH[•] reagent (Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, USA) was added and left for 30 min. in the dark. The plate was then placed in a microplate reader (EPOCH 2, Biotek) and the absorbance was measured at 517 nm. The antioxidant activity of the sample was calculated using the calibration curve ($y = 15.554 \cdot x$, $r^2 = 0.9975$). Results were expressed in µmol of Trolox per 1 g of the sample of the tested coffee grounds.

HPTLC determination of caffeine content

The high-performance thin layer chromatography (HPTLC) analysis was prepared as follows: samples of the extracts were applied with a microsyringe (2 µl) on a 20 x 10 cm HPTLC plate (ALUGRAM ® Xtra SIL G/UV254, Merck, Darmstadt, Germany). The samples were applied in the form of strips using an automatic applicator (Linomat 5, Camag, Muttenz, Switzerland). An aqueous solution of caffeine (99%, Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, USA) was used for calibration, put on the plate in parallel with the test extracts. Calibration range: 0.25 ÷ 2 µg/ml. Limit of detection (LOD): 0.125 µg/ml and limit of quantitation (LOQ): 0.25 µg/ml have been established. The plate was developed using an ADC-2 automatic chromatographic chamber (Camag). The developing phase was a mixture of chloroform, ethyl acetate and formic acid (5:4:1). The solvent front migration distance was 70 mm. The Camag TLC Visualizer was used to analyze the compounds separated by HPTLC, images were taken in UV light at wavelength 254 nm. Images were analyzed using Camag's VisionCats software. The caffeine content of the extracts was calculated from the intensity of the bands (converted to peaks), according to the equation of the standard curve ($y = 1.558 \cdot 10^{-5} \cdot x$; $r^2 = 0.9999$) using the VisionCats software. The result of the quantitative analysis was expressed in µg/g of coffee grounds.

Statistical analysis

All samples were extracted in duplicate and analyzed in three technical replicates. The results were covered by a statistical analysis in the Statistica 13 software. The mean and standard deviation for each sample were calculated, as well as the correlation between the results expressed by Pearson's r coefficient in Microsoft Excel 2019. The ANOVA was used to assess the significance of differences between the means. The Brown-Forsythe test was applied to check the homogeneity of variance and normal distribution of data was tested using Shapiro-Wilk test. As a post-hoc test, Tukey's test was applied ($p = 0.05$).

Results and discussion

The total polyphenol content and phenolic acids in extract of the tested spent coffee grounds are presented in Table 1. In most cases, the highest content of polyphenols was found in water-ethanol extracts, with the exception of poured coffee, where the aqueous extract was the richest in these substances (11.15 mg GAE/g d.w.) than water-ethanol extract (8.16 mg GAE/g d.w.). It was found that with water mainly hydrophilic acids were extracted, whereas the use of ethanol favors the separation of hydrophobic compounds, hence the optimal extraction phase is water-ethanol (Fig. 1). However, this observation shows the possibility to select the adequate extractants which allow to separate expected polyphenols fraction. Taking into account the method by which the largest amount of polyphenols can be left over in coffee grounds is the drip coffee brewing method, where the content of these compounds in the sample was 14.88 mg GAE/g d.w. Other methods in which the amount of polyphenols is at a good recovery level are brewed coffee grounds in the espresso machine (12.29 mg GAE/g d.w.), infused coffee (11.15 mg GAE/g d.w.) and coffee from the coffee maker (10.03 mg GAE/g d.w.). The smallest content of the tested compounds was determined in a sample of coffee grounds from a crucible, only 6.52 mg GAE/g d.w. Differences in the total content of phenolic compounds in spent coffee grounds were previously shown not only depending on the brewing method but also on geographical origin. The reported values ranged from 25.13 mg GAE/g d.m. for light Mexican brewed Mocha coffee to 46.23 mg GAE/g d.w. for dark coffee from Nicaragua brewed using drip [13]. Lower values, similar to those obtained in our study, are reported by Musatto et al. [20], who obtained from 6 to 18.2 mg GAE/g coffee grounds using different concentrations of methanol and a different ratio of solvent to raw material. The results obtained for polyphenols residues in ground coffee, taking into account different types of sample extraction (3.39 to 14.88 mg GAE/g d.w.), are in line with other authors' findings, who analyzed the composition of bioactive compounds in these waste type. Abbasi-Parizad et al. [1] indicate the content of phenolic compounds in the amount of 10.05 ± 0.44 mg GAE/g of dry mass of coffee grounds. Mussatto et al. [20] found the level in the range of 6 - 17.9 mg GAE/g, while Lopez-Linares et al. [16] of about 0.48 mg GAE/g. The content of phenolic acids in the article by Abbasi-Parizad et al. was 1.098 ± 0.038 mg/g [1], while in our experiment the amount of these compounds ranged from 0.84 to 3.34 mg CAE/g d.w., with the highest concentration of acids recorded in most cases in ethanolic extracts, and the lowest in aqueous ones. The influence of the type of solvent and extraction conditions of coffee beans (Arabica and Robusta) on the content of bioactive substances in brews was also previously studied. It was found that the use of ethanol resulted in the higher recovery of caffeine and lower chlorogenic acids and Maillard reaction products, which were better extracted with water [7]. Since among the polyphenols present in coffee, non-phenolic acids constitute a small percentage [24], based

on the determination of phenolic acids, it can be suspected that the data on TPC in water and water-ethanol extracts could be overestimated. It is known that the Folin-Ciocalteu reagent is not specific enough for phenolic compounds, it may be reduced by other substances (e.g. unsaturated fatty acids, reducing carbohydrates, amino acids). It is postulated that it can be used to better express the antioxidant activity of samples, however, it is still a popular method for determining the content of polyphenols in plant extracts and food samples [10].

Table 1. Total polyphenolic compound and phenolic acid content, as well as antioxidant capacity of coffee grounds extracts

Tabela 1. Całkowita zawartość związków polifenolowych i kwasów fenolowych oraz aktywność antyoksydacyjna ekstraktów fusów kawowych

Brewing method/extraction solvent Metoda parzenia/rozpuszczalnik ekstrakcyjny		Total phenolic content Całkowita zawartość związków fenolowych [mg GAE/g d.w.]	Total phenolic acids content Całkowita zawartość kwasów fenolowych [mg CAE/g d.w.]	Antioxidant capacity Aktywność przeciwutleniająca [μmol TE/g d.w.]	
				FRAP	DPPH'
Drip / Drip	ethanol / etanol	3.92±0.39 ^{aA}	3.32±0.04 ^{aA}	19.70±1.57 ^{aA}	9.36±0.44 ^{aA}
	water / woda	10.44±0.03 ^{aB}	2.02±0.04 ^{aB}	51.25±1.48 ^{aB}	25.76±1.29 ^{aB}
	ethanol / etanol 50 %	14.88±0.01 ^{aC}	2.60±0.08 ^{aC}	68.88±2.82 ^{aC}	38.03±1.16 ^{aC}
Crucible Tygielek	ethanol / etanol	3.54±0.45 ^{aA}	3.22±0.25 ^{aA}	15.50±1.12 ^{bA}	8.89±1.32 ^{abA}
	water / woda	5.66±0.01 ^{bB}	1.12±0.02 ^{bB}	25.94±1.12 ^{bB}	12.57±0.54 ^{bA}
	ethanol / etanol 50 %	6.52±0.31 ^{bB}	1.32±0.02 ^{bB}	30.53±0.00 ^{bC}	15.31±0.64 ^{bB}
Coffee maker Kawiarka	ethanol / etanol	3.39±0.15 ^{aA}	3.34±0.33 ^{aA}	13.53±0.85 ^{aA}	9.84±3.14 ^{abA}
	water / woda	5.84±0.07 ^{bcB}	1.23±0.01 ^{cB}	26.99±1.18 ^{bB}	13.05±0.00 ^{bA}
	ethanol / etanol 50 %	10.03±0.04 ^{cC}	1.75±0.27 ^{cB}	46.42±0.00 ^{cC}	23.05±0.34 ^{cB}
Pouring Zalewanie wrzątkiem	ethanol / etanol	3.70±0.61 ^{aA}	2.90±0.05 ^{bA}	18.94±2.99 ^{cA}	8.32±0.27 ^{bA}
	water / woda	11.5±0.06 ^{aB}	2.11±0.15 ^{bcA}	56.99±1.25 ^{cB}	26.37±0.21 ^{abB}
	ethanol / etanol 50 %	8.16±0.04 ^{dC}	0.84±0.25 ^{dB}	39.72±0.66 ^{dC}	18.29±0.10 ^{bC}
Espresso machine Ekspres do kawy	ethanol / etanol	3.58±0.16 ^{aA}	2.83±0.02 ^{bA}	17.66±1.77 ^{dA}	6.02±0.27 ^{cA}
	water / woda	6.52±0.07 ^{cB}	1.27±0.31 ^{dB}	31.85±0.33 ^{dB}	14.60±1.28 ^{bbB}
	ethanol / etanol 50 %	12.29±0.07 ^{cC}	2.20±0.01 ^{eA}	56.01±2.10 ^{cC}	29.04±0.44 ^{dC}
Mean Średnia	ethanol / etanol	3.63±0.38	3.12±0.27	17.07±2.81	8.48±1.90
	water / woda	7.93±2.46	1.55±0.46	38.60±13.44	18.47±6.50
	ethanol / etanol 50 %	10.38±3.07	1.74±0.66	48.31±13.76	24.74±8.41

Objaśnienia /Explanatory notes:

^{a,b,c,d,e} - means marked with the same lowercase superscripts differ among samples brewed with different methods within one extraction solvent used, ^{A,B,C} - means marked with the same uppercase superscripts differ among samples brewed with different extraction solvents within one method used

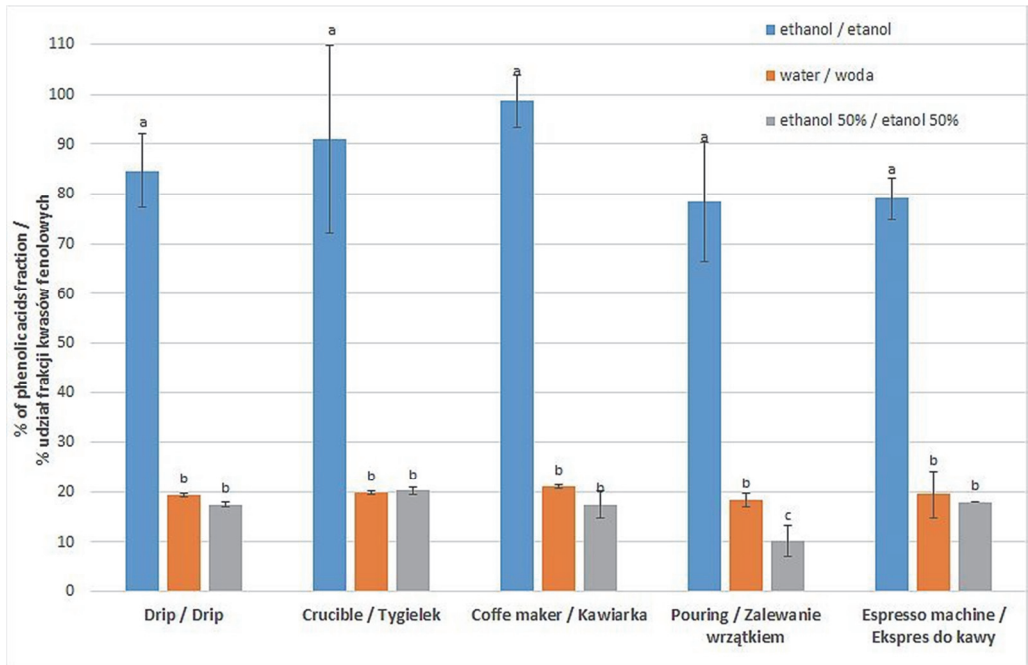


Fig. 1. Percentage share of the phenolic acids fraction in the total phenolic content, a,b,c - means marked with the same superscripts differ among samples brewed with different methods within one extraction solvent used

Rys. 1. Procentowy udział frakcji kwasów fenolowych w całkowitej zawartości związków fenolowych, a,b,c – średnie oznaczone tymi samymi literami różnią się istotnie w ramach jednego zastosowanego rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

The antioxidant capacity evaluated by two methods based on different mechanisms allows to conclude that the vast majority of samples showed the greatest antioxidant activity in the case of water-ethanol extraction (Table 1). Only the poured coffee ground sample differs from the others, the sample extracted with distilled water gave a higher result in both methods used, namely FRAP and DPPH[•]. The results obtained by both methods show a very high degree of correlation ($r = 0.982$). The highest antioxidant activity was shown by a sample of extracts from coffee grounds brewed using the drip method, then in the espresso machine, while the poorest properties were shown by the infusion obtained using a crucible. The measured antioxidant activity of water-ethanol extracts was created mainly by polyphenolic compounds which confirmed calculated Pearson's correlation coefficient values (0.985 and 0.991 for TPC-DPPH and TPC-FRAP, respectively). The high antioxidant activity of extracts from coffee grounds brewed using drip and espresso machine indicates a less effective extraction of these compounds into the solution during coffee brewing, which led to a less valuable

infusion in terms of antioxidant properties compared to coffee brewed using other methods. Another explanation may be the effect of pressure treatment during coffee brewing on the structure of coffee grounds, which makes it easier to leach antioxidant components from beans [7, 25]. Moreover, coffee made in a crucible, brewed in a coffee maker or poured into a glass is in contact with hot water for a long time, and a coffee grain itself is finely ground, which facilitates the extraction of compounds for the brew and their lower content in coffee grounds. It was observed visually that the coffee grounds obtained by brewing coffee in a coffee maker and a crucible were more fine-grained compared to those obtained by other methods. It is well known that the method of brewing coffee has a significant impact on the antioxidant properties of the brew [18, 21], therefore it is reflected in the opposite way in waste after brewing. The effect of the temperature of water used for brewing on the antioxidant capacity of the infusions was observed (hot brewing gave higher values) [21]. It might be expected that the content of antioxidants in the coffee infusion should be inversely correlated with their content in the coffee grounds obtained from the brewing process, however, the described studies focused on assessing coffee grounds only, disregarding the quality of the infusion.

The quantitative HPTLC method was used for the first time to determine the content of caffeine residues in coffee grounds. Based on the initial assessment, water-ethanolic extracts were selected for quantitative analysis. Caffeine visible under UV 254 nm light in the form of a dark band on a green background was noted in all tested samples ($R_f = 0.35$; Figure 2), which confirms that caffeine recovery during coffee brewing is below 100%.

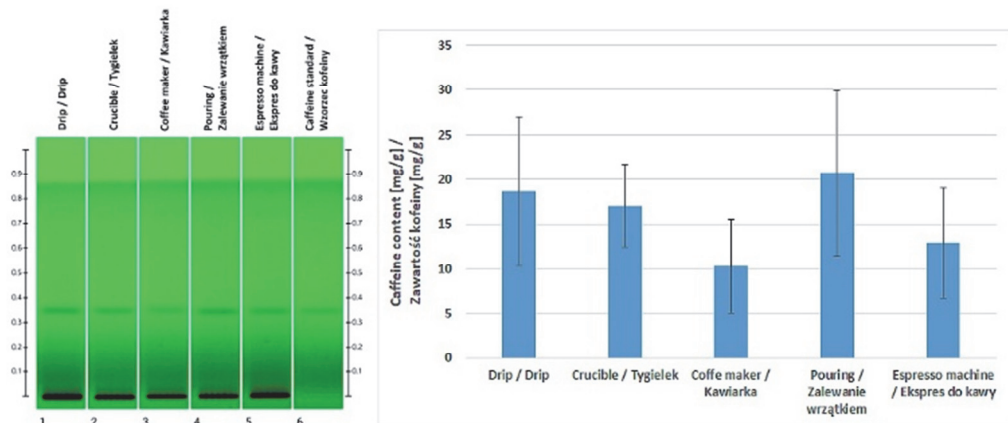


Fig. 2. Caffeine content in coffee grounds assessed by HPTLC method

Rys. 2. Zawartość kofeiny w fusach oceniona metodą HPTLC

Although results per gram of coffee grounds ranged from 10.26 to 20.71 mg (1000 to 2000 mg/100 g) of caffeine, the observed differences were not significant ($P > 0.05$). However, the lowest residual level was observed for coffee maker and espresso machine samples which suggest these coffee brews were the strongest in terms of caffeine level, whereas pouring and drip method brews contain less of that stimulating ingredient. Previous research showed that the use of a coffee maker produces a higher caffeine content than drip or AeroPress device, which is in line with observations on coffee grounds [18].

Depending on the geographical origin of the coffee, the caffeine content in coffee grounds after brewing in the espresso machine ranged between 194.1 and 391.9 mg/100 g [3], which is lower than the value obtained by us. Also a lower content (0.35% of caffeine) was determined in coffee grounds in the study by Prihadi and Maimulyanti [22]. However, this data was obtained using the HPLC method and different extraction conditions were applied. What is more, the caffeine content in coffee grounds is affected not only by the method of brewing coffee and extracting grounds, but also by the quality of coffee itself and its variety. However, in other study [18], no significant differences between specialty coffee brews and popular products regarding the caffeine content were found (an average level amounted to 56 and 40 mg/ml, respectively). In contrast, the antioxidant capacity of specialty coffee brews was significantly higher than for popular ones, regardless of the test used. For two selected high-quality coffees, the impact of the brewing method on the antioxidant activity and caffeine content in the brews was tested. It was found that the use of a dripper (overflow brewing method) provides the brew with the best antioxidant properties but with a moderate caffeine level, compared to coffee maker and AeroPress device [18].

Conclusion

1. It was shown that depending on the coffee brewing method, the quality of spent coffee grounds varies in terms of polyphenols and caffeine content. The popular home methods of brewing coffee in a drip and espresso machine, provides coffee grounds with the highest content of antioxidant compounds.
2. A high residue level of caffeine in the tested waste with the use of a simple and relatively cheap HPTLC method was quantified for the first time.
3. As above mentioned, brewing methods are popular in gastronomy, where waste is produced on a large scale, the results obtained indicate that their use for the recovery of bioactive ingredients is justified. However, due to technological differences in the production of coffee grounds, such waste generated in the industrial processing of coffee on a large scale should also be verified.

References

- [1] Abbasi-Parizad P., De Nisi P., Scaglia B., Scarafoni A., Pilu S., Adani F.: Recovery of phenolic compounds from agroindustrial by-products: Evaluating antiradical activities and immunomodulatory properties. *Food and Bioprod. Process.*, 2021, 127, 338-348.
- [2] Acheson K.J., Zahorska-Markiewicz B., Pittet P., Anatharaman K., Jequier E.: Caffeine and coffee: their influence on metabolic rate and substrate utilization in normal weight and obese individuals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1980, 33, 989-997.
- [3] Andrade C., Perestrelo R., Câmara J.S.: Bioactive Compounds and Antioxidant Activity from Spent Coffee Grounds as a Powerful Approach for Its Valorization. *Molecules*, 2022, 27 (21), #7504.
- [4] Balzano M., Loizzo M.R., Tundis R., Lucci P., Nunez O., Fiorini, D., Giardinieri A., Frega N.G., Pacetti D.: Spent espresso coffee grounds as a source of anti-proliferative and antioxidant compounds. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2020, 59, #102254.
- [5] Bertoncej J., Doberšek U., Jamnik M. Golob T.: Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem.*, 2007, 105 (2), 822-828.
- [6] Blois M.S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958, 181 (4617), 1199-1200.
- [7] Budryn G., Nebesny E., Podsędek A., Żyżelewicz D., Materska M., Jankowski S., Janda B.: Effect of different extraction methods on the recovery of chlorogenic acids, caffeine and Maillard reaction products in coffee beans. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, 228, 913-922.
- [8] Campos-Vega R., Loarca-Pina G., Vergara-Castaneda H.A., Oomah B.D.: Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends Food Sci. Technol.*, 2015, 45(1), 24-36.
- [9] Diaz de Otalora X., Ruiz R., Goiri I., Rey J., Atxaerandio R., San Martin D., Orive M., Inarra B., Zufia J., Urkiza J., Garcia-Rodriguez, A.: Valorisation of spent coffee grounds as functional feed ingredient improves productive performance of Latxa dairy ewes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2020, 264, #114461.
- [10] Everette J.D., Bryant Q.M., Green A.M., Abbey Y.A., Wangila G.W., Walker R.B.: Thorough study of reactivity of various compounds classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 8139-8144.
- [11] Franca A.S., Oliveira L.S.: Potential Uses of Spent Coffee Grounds in the Food Industry. *Foods*, 2022, 11(14), #2064.
- [12] Gemechu F. B.: Embracing nutritional qualities, biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food formulation. *Trends Food Sci. Technol.* 2020, 104, 235-261.
- [13] Głowacka B., Górska A., Wirkowska-Wojdyła M., Wołosiak R., Majewska E., Derewiaka D.: The influence of brewing method on bioactive compounds residues in spent coffee grounds of different roasting degree and geographical origin. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2019, 54, 3008-3014.
- [14] Kulichová K., Sokol J., Nemeček P., Maliarová M., Maliar T., Havrlentová M., Kraic J.: Phenolic compounds and biological activities of rye (*Secale cereale* L.) grains. *Open Chem.*, 2019, 17, 988-999.
- [15] López-Barrera D.M., Vázquez-Sánchez K., Loarca-Piña M.G.F., Campos-Vega R.: Spent coffee grounds, an innovative source of colonic fermentable compounds, inhibit inflammatory mediators in vitro. *Food Chem.*, 2016, 212, 282-290.
- [16] Lopez-Linares J., Garcia-Cubero M.T., Coca M., Lucas, S.: A bioraffinery approach for the valorization of spent coffee grounds to produce antioxidant compounds and biobutanol. *Biomass Bioenergy*, 2021, 147, #106026.

- [17] Miladi M., Martins A.A., Mata T.M., Vegara M., Pérez-Infantes M., Remmani R., Ruiz-Canales A., Núñez-Gómez D.: Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Spent Coffee Grounds Oil Using Response Surface Methodology. *Processes*, 2021, 9, #2085.
- [18] Miłek M., Młodecki Ł., Dżugan M.: Caffeine content and antioxidant activity of various brews of specialty grade coffee. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2021, 20 (2), 179-188.
- [19] Monente C., Bravo J., Vitas A.I., Arbillaga L., Paz De Pena M., Concepcion C.: Coffee and spent coffee extracts protect against cell mutagens and inhibit growth of food-borne pathogen microorganisms. *J. Funct. Foods*, 12, 2015, 365-374.
- [20] Mussatto S.I., Ballesteros L.F., Martins S., Teixeira J.A.: Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Sep. Purif. Technol.*, 2011, 83, 173-179.
- [21] Muzykiewicz-Szymańska A., Nowak A., Wira D., Klimowicz A.: The Effect of Brewing Process Parameters on Antioxidant Activity and Caffeine Content in Infusions of Roasted and Unroasted Arabica Coffee Beans Originated from Different Countries. *Molecules*, 2021, 26 (12), #3681.
- [22] Prihadi A.R., Maimulyanti A.: Chemical Compounds of Coffee Ground and Spent Coffee Ground for Pharmaceutical Products. *Pharm. Biomed. Sci. J.*, 2020, 2, 1-4.
- [23] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 1965, 144-158.
- [24] Tresserra-Rimbau A., Medina-Remón A., Estruch R., Lamuela-Raventós R.M.: Coffee Polyphenols and High Cardiovascular Risk Parameters. In: *Coffee in Health and Disease Prevention*, Academic Press, London 2015, pp. 387-394.
- [25] Zhang L., Wang X., Manickavasagan A., Lim L.T.: Extraction and physicochemical characteristics of high pressure-assisted cold brew coffee. *Future Foods*, 2022, #100113.

ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I KOFEINY W FUSACH UZYSKANYCH PRZY UŻYCIU RÓŻNYCH DOMOWYCH METOD PARZENIA KAWY

Streszczenie

Wprowadzenie. Fusy powstające podczas parzenia kawy jako odpad wytwarzany na świecie w milionach ton rocznie wydają się być ciekawym źródłem substancji bioaktywnych do dalszego wykorzystania. Celem pracy była ocena zawartości składników bioaktywnych w fusach kawowych uzyskanych w wyniku parzenia kawy wybranymi, popularnymi metodami. Badano fusy uzyskane w wyniku parzenia kawy Arabica pięcioma metodami: prostego zalewania, dripa, tygielka, kawiarki i ekspresu. Oceniono zawartość kwasów fenolowych i fenoli ogółem oraz aktywność przeciwutleniającą (przy użyciu metod DPPH^{*} i FRAP) a także zawartość kofeiny (po raz pierwszy przy użyciu techniki wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej HPTLC).

Wyniki i wnioski. Użyta metoda parzenia kawy istotnie wpłynęła na pozostałość związków bioaktywnych w fusach kawowych. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że metody, w których kontakt mielonego ziarna z wodą jest krótki, a ziarno rozdrobnione grubo, pozostawiły w fusach najwięcej związków fenolowych i kofeiny. Takimi technikami są metoda z użyciem dripa i ekspresu do kawy (całkowita zawartość fenoli odpowiednio do 12,29 i 14,88 mg równoważników kwasu galusowego/g) oraz proste zalewanie wrzątkiem w przypadku kofeiny (21 mg/g). Z kolei najuboższe w związki bioaktywne były fusy kawowe uzyskane po parzeniu kawy w tyglu, w których większość oznaczonych substancji została wyekstrahowana do naparu kawowego. Jako najskuteczniejszy z ocenianych systemów ekstrakcji wskazano mieszaninę etanolu i wody (50 %). Wykorzystanie zużytych fusów jako źródła substancji bioak-

tywnych, w tym przeciwutleniaczy z grupy polifenoli oraz kofeiny, może stanowić wartościowy sposób waloryzacji powstających w dużej ilości odpadów gastronomicznych.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwutleniająca, metody parzenia, kofeina, fusy kawowe, HPTLC 

AGNIESZKA RUDZKA, ONDŘEJ PATLOKA, MAGDALENA PŁECHA,
TOMASZ KRÓLIKOWSKI, MICHAŁ OCZKOWSKI, MAREK ZBOROWSKI,
DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, DOROTA ZIELIŃSKA

**CHANGES IN THE MICROBIOME OF A HUMAN AND
IN THE SIMULATOR OF HUMAN INTESTINAL MICROBIAL
ECOSYSTEM (SHIME®) IN RESPONSE TO A DIET
AND PROBIOTIC SUPPLEMENTATION**

S u m m a r y

Background. The Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®) is used to study the behavior of a human microbiome in response to various factors. The aim of this study was to simultaneously demonstrate changes in the microbiome of a human volunteer and in the SHIME® system in response to a change in a diet and probiotic therapy due to a scarcity of published research with similar design.

Results and conclusions. The probiotic therapy resulted in a decrease in fasting insulin and glucose (by 18 % and 13 %, respectively), while the increased fiber intake in the experimental diet seemed to reduce triglyceride, total and LDL cholesterol levels (by 27 %, 15 % and 14 %, respectively) in the volunteer's blood. Due to the improvement of the volunteer's metabolic status, changes in her microbiome were observed. Namely, the improvement of glucose homeostasis led to the occurrence of bacteria of the genus *Akkermansia* in the feces, while the improvement of lipid homeostasis resulted in an increase in the abun-

Dr inż. A. Rudzka ORCID: 0000-0002-3425-360X, *Katedra Dietetyki i Badań Żywności, Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych, Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa*; *inż. O. Patloka, Ústav Technologie Potravin, Agronomická Fakulta, Mendelova Univerzita v Brně, ul. Zemědělská 1665/1 Brno, 613 00, Česká Republika*; *dr M. Płecha* ORCID: 0000-0002-8946-907X, *Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa, Instytut Biologii Ewolucyjnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa*; *dr inż. T. Królikowski* ORCID: 0000-0002-5807-0357, *dr M. Oczkowski* ORCID: 0000-0002-5999-5140, *Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa*; *mgr inż. M. Zborowski* ORCID: 0000-0003-2695-2491, *Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu, ul. Kościuszki 2G, 33-300 Nowy Sącz*; *prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska* ORCID: 0000-0001-9876-5287, *Katedra Dietetyki i Badań Żywności, Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych, Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa*; *dr hab., prof. SGGW D. Zielińska* ORCID: 0000-0001-7845-1352, *Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa*. Kontakt: a.dudkiewicz@ujd.edu.pl

dance of bacteria of the genus *Bacteroides* and *Bifidobacterium* (approx. two and four times, respectively). While changes in the microbiome diversity in the SHIME® luminal fluid (L-SHIME) and in the faeces microbiome were partially similar, the microbiome of SHIME's intestinal wall (M-SHIME) behaved differently. The characteristic feature of both L- and M-SHIME was a microbiome that differed in its composition compared to the volunteer's microbiome at parallel sampling points. The results of this study indicate that adjustments to the standard SHIME® experimental protocol should be made to enable the replication of the human microbiome diversity and its changes in the system.

Key words: microbiome, validation, artificial digestive tract, SHIME, probiotics, food

Introduction

The Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®, ProDigest, Belgium) is an artificial digestive system used increasingly in scientific research to determine changes in the gut microbiome in response to various factors, including, for example, dietary supplements or probiotic preparations [29]. Although the number of investigations applying SHIME® increases, not much is known about how microbiome changes in SHIME® follow microbiome changes in humans.

There are several studies that refer to the validation of the SHIME® system. For example, in one of the recent studies, Duysburgh and colleagues [6] demonstrated that a novel oat ingredient was able to increase the abundance of *Lactobacillaceae* and *Bifidobacteriaceae* in SHIME® in both, simulated intestinal lumen (L-SHIME) and mucosal layer (M-SHIME). In addition, an increase in the short-chain fatty acids (SCFAs) production was observed [6]. Following the SHIME® experiment, the authors also performed a human trial in which they confirmed that the tested substance was able to increase the abundance of *Lactobacilli*.

In another study, the potential of a microbiome from two distinct human metabolotypes to produce urolithin from ellagitannins and ellagic acid contained in a pomegranate extract supplement was demonstrated in SHIME® [9]. The authors validated findings through a discussion with *in vivo* studies, in which these metabolites were reported in humans and animals.

One of the most broadly cited and pioneering studies on the subject investigated the fate of the ulcerative colitis treatment substance, pro-drug sulphasalazine along with enzyme activities and fermentation of polysaccharides in SHIME® [18]. The authors compared the microbial activity of the fecal microbiome in fresh fecal samples taken from human volunteers and from SHIME®. They found that the fermentation patterns of pectins, arabinogalactan and xylan, were not significantly different in terms of SCFAs production between microbiome from the respective SHIME® compartments and fecal samples, and the only difference was reported for the fermentation of starch. Also, enzyme activities were not significantly different between the fecal material and samples from SHIME®. The fate of sulphasalazine was in agreement with the

literature findings of *in vivo* studies. An earlier work of the same group of authors leading to the development of SHIME® demonstrated that the obtained logarithmic counts of various groups of microorganisms (total anaerobes, total aerobes, fecal streptococci, *Enterobacteriaceae* and *Lactobacillus* spp.) cultured in SHIME® were consistent with the reported findings of *in vivo* studies [17].

Critical for the development of the system and its validation was work by Possemiers et al. (2004), in which the authors demonstrated the length of the stabilization period for the microbial community in SHIME®. By means of a polymerase chain reaction coupled with denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) and a moving window correlation analysis, the authors demonstrated that the system achieved stability in terms of the composition of the microbial community (overall bacteria, *Lactobacillus* sp. and *Bacteroides/Prevotella*) after 12 days [24]. Nevertheless, the functional stability, evaluated based on the concentration of SCFAs was reached after 17 days.

In all current works, therefore a period of two weeks is respected as the time required for the stabilization of the microbial community in the SHIME® system. The majority of publications, in which the focus is on microbial metabolites, also add another week or two to evaluate the stability of the microbial community and reach the functional stability of the system. During the stabilization period, a standard protocol applied through the literature uses a standard SHIME® medium composed of undigested, complex carbohydrates (pectin, arabinogalactan, xylan and starch), protein, minerals and vitamins (yeast extract and special peptone), glucose, mucin and l-cysteine [25]. This medium simulates food residues that reach the colon after digestion and absorption of nutrients in the small intestine. Interestingly, its composition differs very little among studies and it is modified in relation to the content of nutrients which are replaced by active substances researched in a particular study. The most commonly replaced nutrients are starch (for studying the effects of complex carbohydrates) and glucose (for studying fermentable sugars) e.g. [16, 21]. While the use of a standard SHIME® feed medium helps to reproduce experimental conditions across the studies, it is not clear how it may influence the initial microbiome, which was supplied with the fecal inoculum to the system. It could be assumed that the shape of the microbial community of the inoculum should be preserved, since the system was validated in the multiple studies mentioned above, however, this element was not discussed by the authors. In fact, if as recommended, SHIME® is inoculated with a fecal sample from a single human donor [25], then the expectation that the standard SHIME® medium will mimic residues from the diet of this particular donor is not plausible. It is with no doubt that the failure to match the residues of the diet of the donor with the nutritional SHIME® medium may affect the composition of the microbiome in the SHIME® sys-

tem. To what extent and whether this change may affect the fate of the microbiome in response to researched factors remains to be answered.

The aim of this study was to evaluate the effect of the modification of the diet and the introduction of probiotic treatment on the composition of the microbiome in SHIME® and human volunteer. A novel element of this study, apart from an attempt to modify the standard SHIME® feed medium to match the diet of the volunteer, was also the design of the parallel sampling of fecal microbiome from human and distal colonic microbiome from SHIME®. So far, the majority of the validation studies for SHIME® have supported findings with time-separated human trials or data available in the literature.

In addition, the metabolic health data for the volunteer was also reported and evaluated in this work, as these factors are known to influence changes in the microbiome and vice-versa.

Materials and methods

The human study

The volunteer was a 39-year-old female with no diagnosed diseases and no antibiotic treatment for up to 12 months prior to the commencement of the study. The volunteer supplied researchers with a record of dietary intake for 28 days prior to the experiment. These records were collected using the Fitatu mobile application (Poznań, Polska), where the quality and portion size of all consumed products were included.

The experiment lasted 28 days. During the whole experiment, the volunteer received a dietary intervention-nutritionally balanced standard diet covering needs for all macronutrients and energy, which was supplied by a professional dietary catering service (Dietering.com®, Stara Wieś, Poland). The diet of the volunteer, 28 days prior to and during the whole experiment, was deprived of fermented foods containing live bacterial cultures.

During the first 14 days of the experiment, the volunteer received also a probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG provided with a commercially available supplement twice a day, with each portion containing 6×10^9 bacterial cells. The volunteer was fully aware of the experimental design and subjected herself to blood testing three times (the beginning, the middle-end of the probiotic therapy and the end of the experiment) using commercial laboratory services (ALAB, Legionowo, Polska). The blood test results allowed to assess the metabolic health and nutritional status of the volunteer. The tests included fasting glucose and insulin levels, lipid profile, the status of Fe, Ca, Mg, vitamins D and B12, as well as blood morphology.

In addition, the volunteer was subjected to a body composition analysis by means of bioimpedance (Tanita MC-780, Amsterdam, the Netherlands) at the time points of blood testing.

The volunteer supplied fresh fecal sample for the inoculation of the SHIME® system and thereafter 11 additional samples during the study, as outlined in the sampling section.

The nutritional value of meals was calculated based on DietetykPro online service (Wrocław, Polska). For commercially available, processed foods, data from the Fitatu application was obtained, as this service contained records of nutritional labels. The experimental diet, with a balanced content of nutrients, was designed by a dietitian by means of a system for managing dietary catering and the dietary module for creating menus MasterLife CRM (Warsaw, Poland).

The nutritional intake of the volunteer with experimental and routine diet was compared by means of an independent sample t-test. The analysis was carried out by means of Excel 2013 (Microsoft, Washington, USA) and assumed a significance level $\alpha = 0.05$.

The study design, prior to its commencement, was approved by the Research Ethics Committee at Jan Dlugosz University in Czestochowa (decision KE-U/12/2022).

The Simulator of Human Microbial Intestinal Ecosystem (SHIME®)

An instrumental model SHIME® (ProDigest, Gent, Belgium) was applied in the study. The study was run in a Multi-SHIME setup, which was focused on the distal colon. The nutritional medium in this design was sequentially flowing through three separated digestive compartments 1. Stomach/duodenum joint vessels (2 pieces), 2. Proximal colon bioreactors (2 pieces) and 3. Distal colon bioreactors (6 pieces, three bioreactors connected to a single proximal colon). In three distal colon bioreactors, L-SHIME and another three M-SHIME setups were simulated.

The procedure of setting up the instrument was based on the manufacturer's manual [25] and mimicked closely procedures in available literature e.g. [14]. Briefly, the instrument was inoculated with fecal microbiome prepared by suspending fresh fecal sample in phosphate buffer (1:5 ratio), homogenization and centrifugation for two minutes at 500 x g. Then, the supernatant was injected into the instrumental compartments filled with a standard nutritional medium (proximal and distal colon) and left overnight to stabilize during the start-up phase. Afterwards, a two-week stabilization period, in which the standard nutritional medium (210 cm³ per one stomach compartment, see Table 1 for composition) and pancreatic liquid (90 cm³ per one stomach compartment) were dozed three times a day to the system, was followed.

During the experiment, the proportion of the nutrients in the standard nutritional medium was changed to mimic the residues that could reach the colon of the volunteer.

The calculation was based on data from one of the most recent studies on the nutritional content of ileostomies from humans fed with a diet of known nutritional value [12]. To estimate the content of nutritional residues, the content of nutrients consumed with the volunteer's diet was multiplied by the percentage fraction of expected residue (Table 1) and normalized to the content of total fiber residue in the standard medium. The nutritional content of the experimental medium was given in Table 1.

The same probiotic supplement as the one used for the human study was applied directly to the stomach of SHIME® twice a day, at time points at which feeding the vessel with the experimental nutritional medium ceased. Samples were taken from six distal colon compartments of the system as soon as the volunteer supplied a fecal sample for analysis.

Table 1. The nutritional content of the standard and experimental SHIME feed media and the fractions of nutrients reaching the colon based on [12]

Tabela 1. Zawartość składników odżywczych w standardowej i eksperymentalnej pożywce SHIME, a także frakcje składników odżywczych docierających do okrężnicy według [12]

Component / Składnik	Standard feed Pożywka standardowa (g/dm ³)	Experimental feed mean ± s.d. Pożywka eksperymentalna średnia ± o.s. (g/dm ³)	Fraction reaching the colon from the dietary intake Frakcja docierająca do okrężnicy z pożywienia (%)
Arabinogalactan / Arabinogalaktan	1.2	1.8 ± 0.8	83 (fiber / błonnik)
Pectin / Pektyny	2	3.5 ± 0.9	
Xylan / Ksyln	0.5	0.7 ± 0.3	
Starch / Skrobia	4	2.3 ± 1.0	
Glucose / Glukoza	0.4	0.3 ± 0.1	1.1 (sugars / cukry)
Yeast extract / Ekstrakt drożdżowy	3	5.5 ± 1.5	16.0 (protein / białko)
Special pepton / Pepton specjalny	1	3.5 ± 2.1	
L-cystein-HCl / L-cysteiny HCl	0.5	0.5	Substances present in the intestines Substancje obecne w jelitach
Mucin / Mucyna	3 (L-SHIME), 2 (M-SHIME)	3 (L-SHIME), 2 (M-SHIME)	

Sampling

The sampling of feces, M-SHIME mucosa and L-SHIME liquid was carried out 11 times during the experimental period on days outlined in Fig. 1. In addition, a sample of inoculum-feces used to populate the SHIME® system with human intestinal microbiome was acquired. Sampling for the analysis of the microbiome composition was carried out in three replicates.

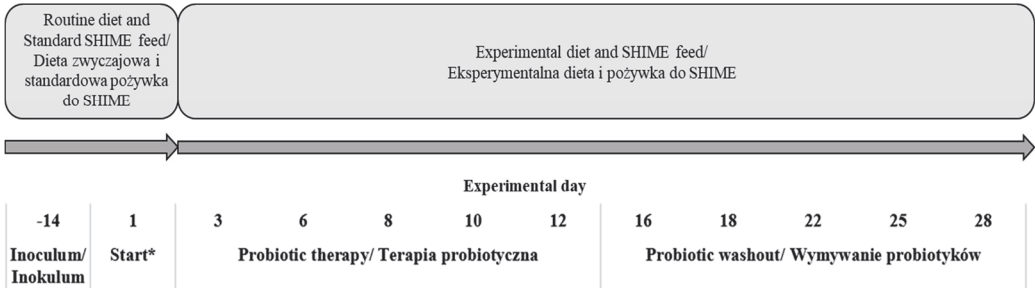


Fig. 1. The sampling scheme and experimental design

Rys. 1. Próbkobranie oraz projekt eksperymentu

Bacterial DNA Extraction and metabarcoding

Total genomic DNA was extracted using Genomic Mini AX Stool (mod.1) (cat. no. 065-60-M1; A & A Biotechnology, Poland) and purified with Anty-Inhibitor Kit (cat. no. 1015-50; A & A Biotechnology, Poland) according to the manufacturer's suggestions. Briefly, up to 100 mg of feces, microbial pellet from 2 cm³ of L-SHIME content (centrifuged at 5,000 x g for 10 min) and 200 mg of mucin taken from M-SHIME beads was subjected to extraction and purification using the same kit. The quality of each DNA extract was confirmed spectrophotometrically and by gel electrophoresis. Triplicates of extracted DNA were pooled prior to sequencing.

Bacterial relative abundance and taxonomic diversity identified in the samples were revealed using high throughput sequencing (HTS) of 16S rRNA gene amplicons. For amplification of the V3-V4 regions of 16S rDNA, the following primers were applied: 341F 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' and 785R 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3. 34 amplicons (12 samples of stool, 11 of L-SHIME and 11 of M-SHIME) were prepared using high-fidelity KAPA HiFi DNA Polymerase (Roche, Basel, Switzerland). Amplicons were sequenced on an Illumina MiSeq platform (Illumina, California, USA) by the Genomed company (Warsaw, Poland) using a v3 MiSeq chemistry kit in the paired-end mode (read lengths 2 x 250 bp).

The quality estimation of sequences was performed using FastQC software [1]. Qiime2 [2] with dada2 pipeline and taxonomic assignment based on Naive Bayes classifier trained on Silva database v. 138, as downloaded in April 2022, was used to assign accepted 16S rDNA sequences. Taxonomic profiles were used to characterize the microbiome community of the studied samples.

Results and discussion

Nutritional intake and metabolic and nutritional status of the human volunteer

The nutritional intake of the volunteer before and during the experiment was shown in Fig. 2 and her metabolic and nutritional status was summarized in Table 2.

The intake of protein, fiber, cholesterol and energy was significantly greater with the experimental diet compared to the routine diet of the volunteer ($p < 0.05$). On the other hand, the intake of remaining macronutrients (carbohydrates, sugars and fats) did not significantly differ between the diets ($p > 0.05$).

Compared with dietary reference values for the European population and women aged 30 ÷ 39 [7], both diets provided adequate amounts of fat (on average 30 and 34 % for experimental and routine diets, respectively, with reference intake 20 ÷ 35 %) and carbohydrates (on average 47 and 50 % for experimental and routine diet, respectively, reference intake 45 ÷ 60 %). Both diets also covered on average the requirement of the volunteer for protein, exceeding the population reference intake of 0.83 g/kg or body weight by 50 % for the experimental diet and 1 % for the routine diet. On the other hand, the intake of fiber exceeded the adequate intake value of 25 g per day only in the experimental diet (average 38 g per day) and was much lower in the routine diet (average 14 g per day). The intake of energy was slightly lower in the routine and experimental diets (on average 1,647 and 1,771 kcal/day, respectively) compared to the average requirement for women with low physical activity (1,811 kcal/day) and could be termed as sufficient, since the volunteer's body weight remained quite stable prior to and during the experiment. On the other hand, the mean intake of cholesterol in both diets could be considered too high in view of the recommendations of the Polish Diabetes Society, where levels < 300 mg/day are recommended for the general population and < 200 mg/day for dyslipidaemia [23].

While in the experimental diet, the intake of cholesterol was on average at 437 mg/day, in the routine diet it was only 244 mg/day, however, considering that the levels of total cholesterol in the volunteer's blood were elevated (240 mg/100 cm³ compared to recommended < 190 mg/100 cm³ [19]), then an intake of < 200 mg/day could be referred to. It should be noted, however, that not all experts agree with the recommendations for cholesterol intake and some of them even state that "Cholesterol is not a nutrient of concern for overconsumption." [5]. The results of this study support the above-mentioned statement, since despite an increased cholesterol intake with the experimental diet the level of cholesterol in the participant's blood did not increase through the experiment.

In terms of the metabolic health and nutritional status of the volunteer (Table 2), values for total cholesterol, LDL cholesterol and body fat % were considered too high compared to the accepted norms [19, 28], while the level of vitamin D too low

throughout the entire experiment [3]. Other parameters, including body weight (with the volunteer's height of 164 cm) were considered normal.

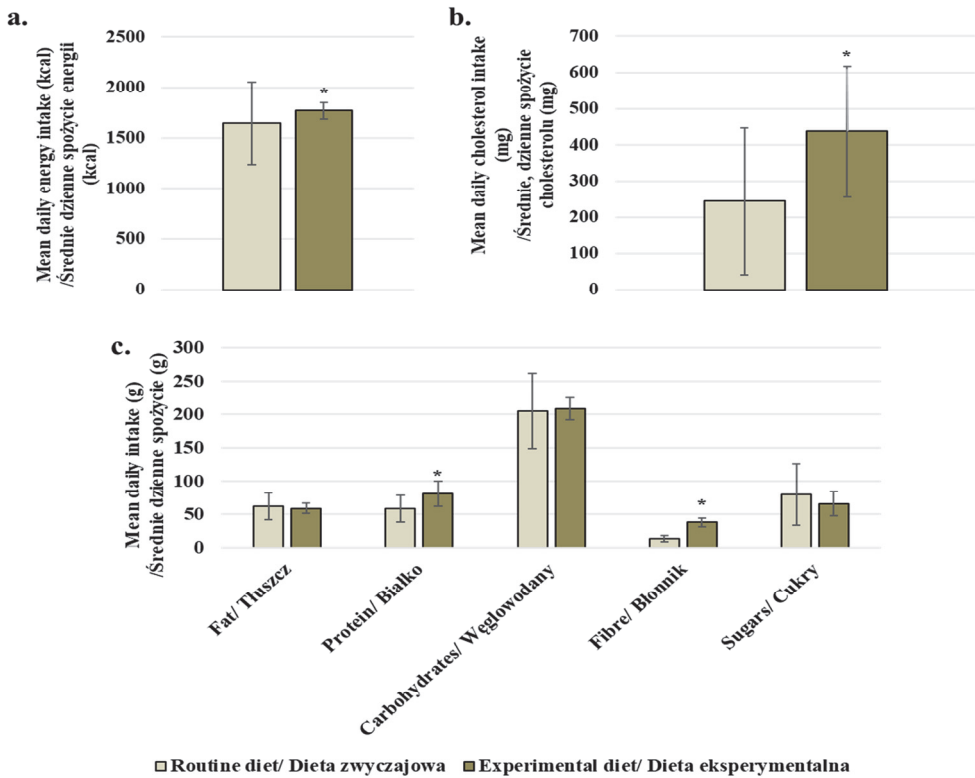


Fig. 2. Energy value (a.), intake of cholesterol (b.) and macronutrients (c.) with experimental and routine diet. *denotes a statistically significant difference in nutrient or energy intake between the experimental and routine diet (t-test, $p < 0.05$).

Rys. 2. Wartość energetyczna (a.), spożycie cholesterolu (b.) oraz makroskładników pokarmowych (c.) z diety eksperymentalnej i zwyczajowej. *oznacza statystycznie istotną różnicę w spożyciu składnika pokarmowego lub energii pomiędzy dietą eksperymentalną a zwyczajową (test-t, $p < 0,05$).

Despite no replication for blood testing and body analysis on test days, there were some differences in the values of several studied parameters that exceeded 10% between test days, hence could not be explained by the measurement uncertainty alone, and were termed considerable. A considerable decrease in fasting blood glucose and insulin levels was noted after two weeks of probiotic therapy, while at the end of the experiment, the levels of total, LDL and HDL cholesterol fell down along with the levels of triglycerides and levels of body fat. A decrease in the blood iron concentration through the experiment was also noted. Overall, all these changes, apart from the

decrease in iron concentration, were positive and indicated that the probiotic therapy could have improved the tolerance of glucose in the volunteer, while the diet contributed mainly to improved lipid homeostasis.

Table 2. The metabolic and nutritional status of the volunteer during the experiment

Tabela 2. Stan metaboliczny i odżywienie ochotnika w czasie trwania eksperymentu

Parameter/ Parametr	Before the experiment Przed eksperymentem	Last day of the probiotic treatment Ostatni dzień probiotykoterapii	Last day of the experiment Ostatni dzień eksperymentu
Total Cholesterol / Cholesterol całkowity (mg/100 cm ³)	240	234	205
Cholesterol HDL (mg/100 cm ³)	63	61	55
Cholesterol LDL (mg/100 cm ³)	159	153	137
Triglycerides / Trójglicerydy (mg/100 cm ³)	90	100	66
Fasting insulin / Insulina na czczo (mU/dm ³)	4.82	3.93	4.87
Fasting glucose / Glukoza na czczo (mg/100 cm ³)	97	84	90
Iron / Żelazo (ug/100 cm ³)	113	79	65
Calcium / Wapń (mg/100 cm ³)	9.7	9.8	9.2
Magnesium / Magnez (mg/100 cm ³)	2.2	2.11	2.14
Vitamin / Witamina B12 (pg/cm ³)	427	375	389
Vitamin / Witamina D (ng/cm ³)	23	23	23.9
Body weight / Masa ciała (kg)	65.9	65.9	65.4
Fat weight / Masa tłuszczu (kg)	21.2	21.6	19.1

Some studies confirm the beneficial influence of *Lactobacillus rhamnosus* GG on glucose homeostasis. While in human studies authors applied this probiotic along with *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* BB-12 and found it effective in the improvement of insulin sensitivity in pregnant women [8], there are many animal studies showing that *Lactobacillus rhamnosus* GG alone aids the metabolism of sugars in animals [20].

The improvement of lipid homeostasis and a decrease in body fat of the volunteer after 28 days of the experiment was probably attributed to the increased intake of fiber with the experimental diet compared to the routine diet. The limitation of the bioaccessibility of nutrients through the intake of dietary fiber is a known fact. Nevertheless, in relation to cholesterol, a recent meta-analysis of observational studies on the development of cardiovascular diseases (CVD) and controlled trials, where a fiber intake was increased in people with CVD and hypertension, found only weak evidence confirming this hypothesis [26]. On the other hand, not only quantity, but also the quality of the fiber could be an important factor to be considered while reviewing similar studies. Old, but convincing evidence comes from the study on ileostomised humans, in which

Table 3. Expected changes in the abundance of specific intestinal microbial taxa associated with human metabolism

Tabela 3. Spodziewane zmiany w liczebności specyficznych taksonów drobnoustrojów jelitowych powiązane z metabolizmem człowieka

Microorganism Mikroorganizm	Expected behaviour Oczekiwana reakcja	Observation in the literature Obserwacja w literaturze	Source Źródło
<i>Akkermansia</i> in particular <i>Akkermansia muciciphila</i>	Increase Wzrost	Inversely correlated with impaired glucose homeostasis, it increases with a decrease in cholesterol levels. Odwrotnie skorelowany z zaburzoną homeostazą glukozy, wzrasta wraz ze spadkiem poziomu cholesterolu.	[11, 13, 15]
<i>Bacteroides</i>	Increase Wzrost	Linked to the Western diet, higher in people consuming high amounts of animal protein and fat, it increases with an increased fiber intake. / Związany z dietą zachodnią, wyższy u osób spożywających duże ilości białka i tłuszczu zwierzęcego, wzrasta wraz ze wzrostem spożycia błonnika.	[4, 11, 15, 31]
<i>Bifidobacterium</i>	Increase Wzrost	It may increase due to a probiotic therapy, inversely correlated with type 2 diabetes, and negative relationship with the level of visceral fat, levels of LDL cholesterol and triglycerides. / Może wzrosnąć w związku z terapią probiotykami, odwrotnie skorelowaną z cukrzycą typu 2 oraz ujemnym związkiem z poziomem trzewnej tkanki tłuszczowej, poziomem cholesterolu LDL i trójglicerydów.	[10, 11, 15]
<i>Blautia</i>	Increase Wzrost	Lower levels in humans with type 2 diabetes. / Niższe poziomy u ludzi z cukrzycą typu 2.	[15]
<i>Christensenellaceae</i>	Increase Wzrost	Negatively correlated with cholesterol levels in children. Ujemnie skorelowany z poziomem cholesterolu u dzieci.	[13]
<i>Enterobacteriaceae</i>	Decrease Spadek	Higher abundance in metabolic diseases. / Większa obfitość w chorobach metabolicznych.	[15]
<i>Eubacterium</i>	Increase Wzrost	Potential probiotic, it may decrease cholesterol levels, metabolizes plant polysaccharides. / Potencjalny probiotyk, może obniżać poziom cholesterolu, metabolizuje roślinne polisacharydy.	[4, 13]
<i>Faecalibacterium</i>	Increase Wzrost	Negatively correlated with type 2 diabetes and blood cholesterol levels, increased levels associated with the Mediterranean diet. / Ujemnie skorelowany z cukrzycą typu 2 i poziomem cholesterolu we krwi, podwyższony poziom związany z dietą śródziemnomorską.	[11, 13]
<i>Prevotella</i>	Increase Wzrost	It increases with a high intake of fiber and plant foods. Zwiększa się wraz z wysokim spożyciem błonnika i pokarmów roślinnych.	[4, 15, 31]
<i>Roseburia</i>	Increase Wzrost	Negatively correlated with type 2 diabetes, it metabolizes plant polysaccharides. / Ujemnie skorelowany z cukrzycą typu 2, metabolizuje polisacharydy roślinne.	[4, 11]

it was demonstrated that the addition of pectin from citrus fruits allowed to increase the excretion of fat, but unfortunately, also the absorption of some of the minerals, including iron, was affected [27]. This is in line with our observation, especially, given that a dietary intake of pectin from fruit and vegetables increased the most from among studied fractions of soluble dietary fiber (by 240 %, other fractions being arabinogalactan, xylans and starch, the intake of which changed by -1, -32 and 151 %, respectively) during the experiment.

Positive changes in the metabolism and body composition of the volunteer during the experiment, as mentioned in the literature, should trigger some changes in the composition of the intestinal microbiome. Based on the literature, changes in taxa mentioned in Table 3 were expected.

Microbiome composition of SHIME® and of a human volunteer

To find out whether the changes in the microbiome of the volunteer followed the improvement in her metabolism during the experiment, data from test days 1 (start of the experiment prior to the probiotic therapy), 12 (the last test day during the probiotic therapy) and 28 (the end of the experiment) was compared. In addition, data from L- and M-SHIME for the same test days was presented to discuss the similarity between the microbiome in SHIME® and feces.

The relative abundance of the dominant bacterial phyla in the microbiome of a human, L- and M-SHIME was presented in Fig. 3.

It can be noticed that the microbiome composition was changing during the experiment, in the volunteer's feces and in the L-SHIME system. In the M-SHIME, the microbiome was much more stable. The stability and the composition of the M-SHIME microbiome were most likely attributed to the affinity of different bacterial strains to the mucosal layer of the intestine, as implied in previous works [30]. However, up to date, there is not much data in the literature regarding the parallel comparison of M-SHIME and the fecal microbiomes which would be similar to that reported in this study.

The relative abundance of the bacterial taxa in volunteer's feces fluctuated over time when looking at the abundance of particular phyla (Fig. 3), whereas in L-SHIME, there was a gradual increase in the relative abundance of *Firmicutes*, as well as a decrease in *Bacteroidetes* and *Actinobacteriota* phyla.

Neither the day 1 L- nor M-SHIME samples was compositionally similar to the microbiome introduced with the inoculum (day -14). On the contrary, the fecal sample from day 1, maintained the proportions of microbial phyla present in the inoculum. The

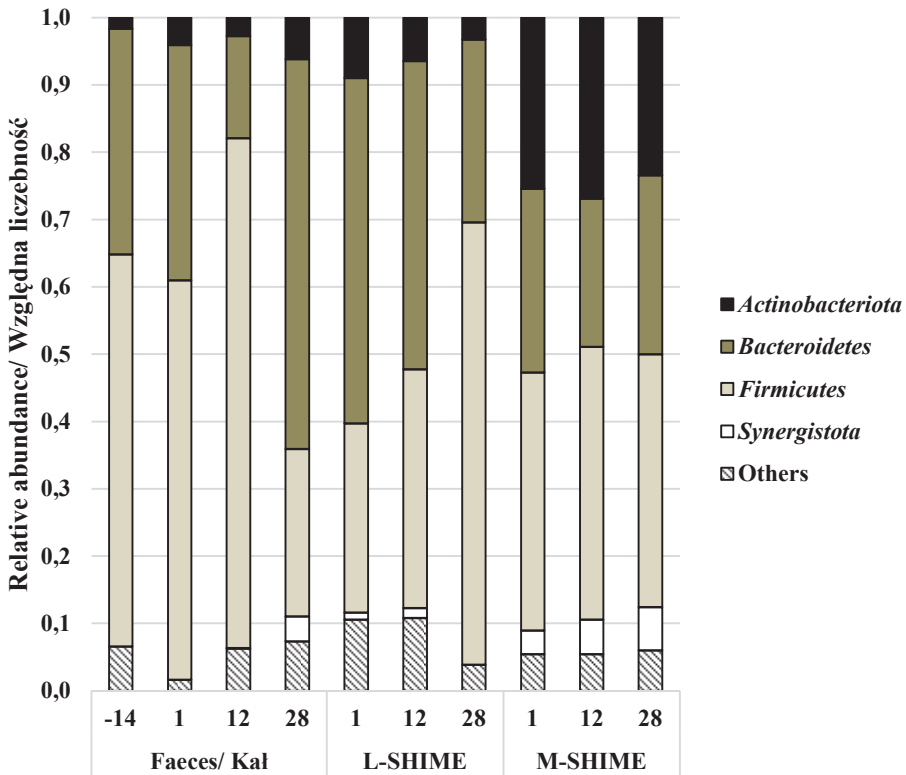


Fig.3. Relative abundance of the dominant microbial phyla in the analyzed samples, others- includes phyla with an abundance of <5%, including unidentified (for each sample <0.1%), L-SHIME (refers to samples taken from SHIME's lumen), M-SHIME (refers to samples taken from SHIME's mucosa)

Rys.3. Względna liczebność dominujących gromad mikroorganizmów w analizowanych próbkach, inne włącza gromady z liczebnością <5%, w tym niezidentyfikowane (których liczebność dla każdej próbki wynosiła <0.1%), L-SHIME (odnosi się do próbek pobranych ze światła jelita SHIME), M-SHIME (odnosi się do próbek pobranych z warstwy mucynowej SHIME)

changes observed in the day 12 and 28 samples could be the result of applied interventions, namely probiotic supplementation (day 12) and diet (day 28). Interestingly, the changes that were observed in L-SHIME led to the final composition of the microbiome (day 28), which was similar to the one that was present in the inoculum. This finding suggests that the fecal microbiome may be compositionally reproduced in L-SHIME. To our best knowledge, the ability of SHIME® to mimic the diversity of the fecal microbiome of the human donor has not been presented so far. One of the reasons why authors in previous studies did not show strong interest in this ability of SHIME® could be the use of fecal cocktails from different donors for SHIME® inoculation instead of single donor samples. One can also speculate that the colonic and

fecal microbiomes could differ considerably, as presumed by authors contributing to the development of SHIME® [24].

Based on the evidence presented in this study, a probable reason for the difficulties with the replication of microbial diversity of fecal microbiome in SHIME® could be the composition of the standard SHIME® media that differed considerably from the dietary residues expected to reach volunteer's colon. The residues of the volunteer's routine diet should have contained proportionally more protein and less soluble fiber compared to the standard SHIME® feed (average protein-to-fiber ratio 1.1 and 0.5, respectively). On the other hand, the average protein-to-fiber ratio during the experiment in dietary residues and SHIME® media was at the level of 0.9. Since the average protein-to-fiber ratio increased in the SHIME® feed and decreased in the dietary residues reaching the colon of the volunteer during the experiment when compared to the period before the experiment, it could be expected that the changes in the microbiome of SHIME® (especially L-SHIME) and feces would be inverse. Considering the day 1 and 28 samples, the expected reaction of the microbiome was achieved. In L-SHIME, a considerable increase of *Firmicutes* and a decrease of *Bacteroidetes* was noted, while in the human volunteer, an exactly contrary change took place. This also means that at the beginning of the experiment the volunteer's microbiome was characteristic of dysbiosis in obesity [22]. However, during the experiment, bacterial diversity in the microbiome of the volunteer changed into one characteristic of healthy adults. In addition to this positive change, the volunteer experienced weight and fat loss during the experiment, which can be a mutual effect accompanying a positive microbiome shift.

Out of the ten metabolically important microbial taxa mentioned in Table 3, six were present in most of the samples. Changes in the abundance of these six metabolically important microbial taxa were shown in Fig. 4. The abundance of four of these taxa was changing in response to probiotic supplementation and diet, together with improving metabolic health of the volunteer, as could be expected based on the literature summarized in Table 3. The relative abundance of:

1. *Akkermansia* increased during the probiotic therapy (when glucose homeostasis improved), but decreased after the probiotic was discontinued (when it slightly decreased again);
2. *Bacteroides* increased due to a high fiber intake with the experimental diet;
3. *Bifidobacterium* increased on day 28 when lipid homeostasis improved;
4. *Enterobacteriaceae* decreased, presumably due to the improvement of the metabolic status of the volunteer.

The patterns of changes in the relative abundance of six microbial taxa outlined in Fig. 4 were partially similar in the microbiomes of feces and L-SHIME, but not in M-SHIME. For example, in both feces and L-SHIME samples, the relative abundance of *Blautia* and *Enterobacteriaceae* decreased with the progress of the experiment. Like-

wise, the levels of *Eubacterium* were the most abundant in both types of samples on day 12. Nevertheless, some differences were also observed. The levels of *Bacteroides* and *Bifidobacterium* decreased with time in L-SHIME, but were the highest at the end of the experiment in feces.

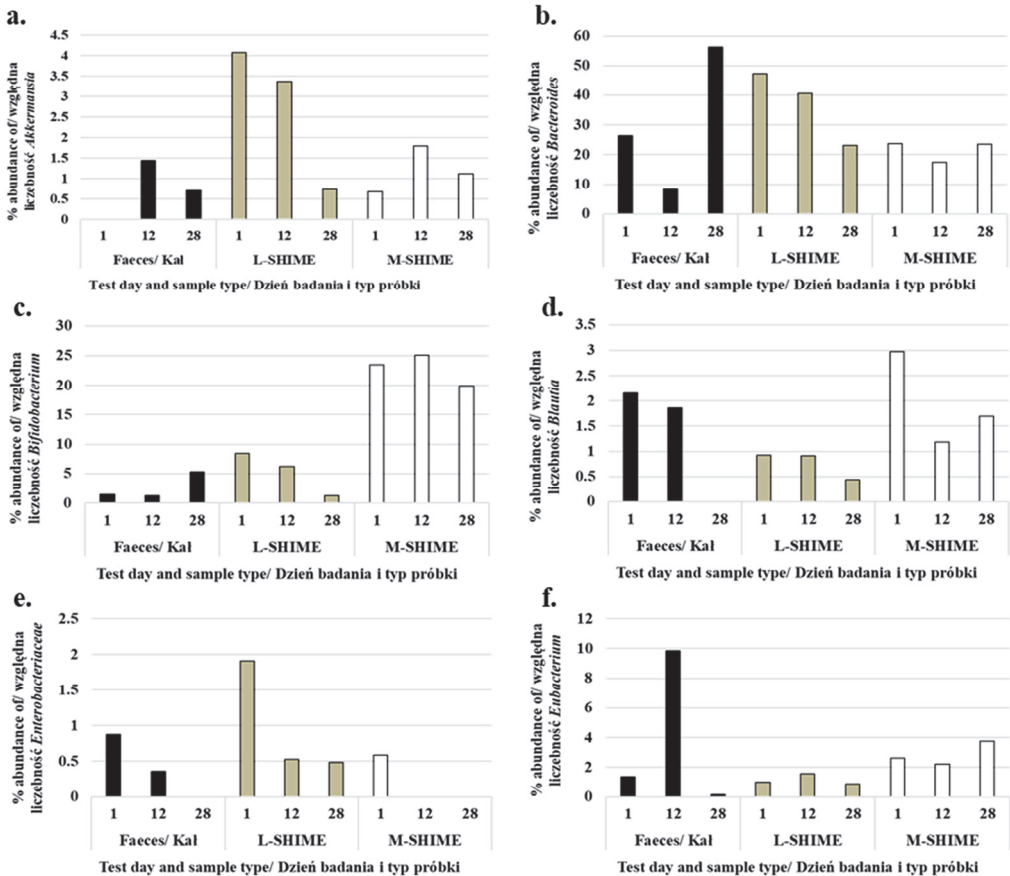


Fig. 4. Relative abundance of metabolically important microbial taxa: *Akkermansia* (a.), *Bacteroides* (b.), *Bifidobacterium* (c.), *Blautia* (d.), *Enterobacteriaceae* (e.), *Eubacterium* (f.). L-SHIME (refers to samples taken from SHIME's lumen), M-SHIME (refers to samples taken from SHIME's mucosa)

Rys 4. Względna liczebność metabolicznie istotnych taksonów mikrobiologicznych: *Akkermansia* (a.), *Bacteroides* (b.), *Bifidobacterium* (c.), *Blautia* (d.), *Enterobacteriaceae* (e.), *Eubacterium* (f.). L-SHIME (odnosi się do próbek pobranych ze światła jelita SHIME), M-SHIME (odnosi się do próbek pobranych z warstwy mucynowej SHIME)

Overall, the bacterial diversity observed in the three types of the samples was different, however, some of the observed changes in the abundance of selected taxa were

in agreement between fecal and L-SHIME microbiomes. The changes found in the diversity of the human microbiome could perhaps be more accurately reproduced in L-SHIME through the optimization of the inoculation and stabilization process prior to the experiment. In addition, more attention should be paid to the SHIME® media composition, because these media may influence the microbial diversity. Perhaps, if dietary residues that reach the human colon would be precisely applied in SHIME® media, inoculated human fecal microbiome would not undergo dramatic changes during the process of stabilization in SHIME®.

Conclusions

1. The applied probiotic and dietary interventions were successful in improving the metabolic status of the volunteer participating in the research. While the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG helped to reduce the levels of fasting glucose (by 13 %) and fasting insulin (by 18 %), the fiber-rich dietary intervention allowed to decrease blood levels of triglycerides (by 27 %), as well as total and LDL cholesterol (by 15 and 14 %, respectively). In addition, the applied experimental diet, despite energy increase compared to the routine diet, seemed to affect % of body fat in the volunteer (a loss of 10 %).
2. The fecal microbiome of the volunteer and the microbiome displayed some changes during the experiment, which were positively related to the improvement of metabolic status and weight loss, such as the occurrence of *Akkermansia* with the improved glucose homeostasis and increased relative abundance of *Bifidobacterium* and *Bacteroides* (approx. four- and two-fold, respectively). Despite some similarities in the behavior of selected microbial taxa in fecal and L-SHIME microbiomes, the general composition of these microbiomes during the same test time points was different. In addition, the microbiome of M-SHIME and its changes were not similar to those obtained for fecal and L-SHIME samples.
3. The SHIME® was found to be a suitable and helpful tool for investigating the changes in the human microbiome. However, a change in the microbiome stabilization protocol, and in particular the feed in L-SHIME, could lead to a better representation of the composition of the fecal microbiome inoculated in the system and its changes in response to the applied interventions.

Acknowledgment

This research was funded in part by the National Science Centre, Poland 531957. Blood tests were financed by the volunteer participating in the study and their results were shared free of charge with the research team. The authors of this research would like to thank the staff and students of the Warsaw Life Sciences University for support and guidance during the experimental work. In particular, we would like to

acknowledge Dr Katarzyna Neffe-Skocińska, Mr Marcin Kruk, Ms Marcelina Karbowiak, Ms Wioletta Mosiej and Ms Joanna Dziubińska.

For the purpose of Open Access, the author has applied a CC-BY public copyright license to any Author Accepted Manuscript (AAM) version arising from this submission.



References

- [1] Andrews S.: FastQC - A quality control tool for high throughput sequence data. [on line]. Babraham Bioinformatics. 2010, Dostęp w internecie [23.01.2023]: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- [2] Bolyen E., Rideout J.R., Dillon M.R., Bokulich N.A., Abnet C.C., Al-Ghalith G.A., Alexander H., Alm E.J., Arumugam M., Asnicar F., Bai Y., Bisanz J.E., Bittinger K., Brejnrod A., Brislawn C.J., Brown C.T., Callahan B.J., Caraballo-Rodríguez A.M., Chase J., Cope E.K., Da Silva R., Diener C., Dorrestein P.C., Douglas G.M., Durall D.M., Duvallet C., Edwardson C.F., Ernst M., Estaki M., Fouquier J., Gauglitz J.M., Gibbons S.M., Gibson D.L., Gonzalez A., Gorlick K., Guo J., Hillmann B., Holmes S., Holste H., Huttenhower C., Huttley G.A., Janssen S., Jarmusch A.K., Jiang L., Kaehler B.D., Kang K.B., Keefe C.R., Keim P., Kelley S.T., Knights D., Koester I., Kosciolk T., Kreps J., Langille M.G.I., Lee J., Ley R., Liu Y.-X., Loftfield E., Lozupone C., Maher M., Marotz C., Martin B.D., McDonald D., McIver L.J., Melnik A.V., Metcalf J.L., Morgan S.C., Morton J.T., Naimey A.T., Navas-Molina J.A., Nothias L.F., Orchanian S.B., Pearson T., Peoples S.L., Petras D., Preuss M.L., Pruesse E., Rasmussen L.B., Rivers A., Robeson M.S., Rosenthal P., Segata N., Shaffer M., Shiffer A., Sinha R., Song S.J., Spear J.R., Swofford A.D., Thompson L.R., Torres P.J., Trinh P., Tripathi A., Turnbaugh P.J., Ul-Hasan S., van der Hooft J.J.J., Vargas F., Vázquez-Baeza Y., Vogtmann E., von Hippel M., Walters W., Wan Y., Wang M., Warren J., Weber K.C., Williamson C.H.D., Willis A.D., Xu Z.Z., Zaneveld J.R., Zhang Y., Zhu Q., Knight R., Caporaso J.G.: Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.*, 2019, 37 (8), 852–857.
- [3] Buczkowski K., Chlabicz S., Dytfeld J., Horst-Sikorska W., Jaroszyński A., Kardas P., Marcinkowska M., Siebert J., Tałataj M.: 2013. Wytyczne dla lekarzy rodzinnych dotyczące suplementacji witaminy D. *Wybrane Problemy Kliniczne*, 2013, 7 (2), 55–58.
- [4] David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N., Gootenberg D.B., Button J.E., Wolfé B.E., Ling A.V., Devlin A.S., Varma Y., Fischbach M.A., Biddinger S.B., Dutton R.J., Turnbaugh P.J.: Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014, 505 (7484), 559–563.
- [5] Dietary Guidelines Advisory Committee, US.: Scientific Report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee. 2015, Washington, DC: US Departments of Agriculture and Health and Human Services, 2015 [on line]. Office of Disease Prevention and Health Promotion. Dostęp w internecie [6.06.2023]: <https://health.gov/sites/default/files/2019-09/Scientific-Report-of-the-2015-Dietary-Guidelines-Advisory-Committee.pdf>
- [6] Duysburgh C., Van den Abbeele P., Kamil A., Fleige L., De Chavez P.J., Chu Y., Barton W., O'Sullivan O., Cotter P.D., Quilter K., Joyce S.A., Murphy M., Dunn Galvin G., Dinan T.G., Marzorati M.: In vitro–in vivo Validation of Stimulatory Effect of Oat Ingredients on Lactobacilli. *Pathogens*, 2021, 10 (2), 235.
- [7] EFSA.: DRV Finder [on line]. Dostęp w internecie [6.06.2023]: <https://www.efsa.europa.eu/en/interactive-pages/drvs> (accessed 06.06.23).

- [8] Flach J., van der Waal M.B., Kardinaal A.F.M., Schloesser J., Ruijschop R.M.A.J., Claassen E.: Probiotic research priorities for the healthy adult population: A review on the health benefits of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* BB-12. *Cogent Food Agric.*, 2018, 4 (1), 1452839.
- [9] García-Villalba R., Vissenaekens H., Pitart J., Romo-Vaquero M., Espín J.C., Grootaert C., Selma M.V., Raes K., Smagghe G., Possemiers S., Van Camp J., Tomas-Barberan F.A.: Gastrointestinal Simulation Model TWIN-SHIME Shows Differences between Human Urolithin-Metabotypes in Gut Microbiota Composition, Pomegranate Polyphenol Metabolism, and Transport along the Intestinal Tract. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 2017, 65 (27), 5480–5493.
- [10] Gong H., Gao H., Ren Q., He J.: The abundance of bifidobacterium in relation to visceral obesity and serum uric acid. *Sci. Rep.*, 2022, 12 (1), 13073.
- [11] Gurung M., Li Z., You H., Rodrigues R., Jump D.B., Morgun A., Shulzhenko N.: Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 2020, 51, 102590.
- [12] Isaksson H., Landberg R., Sundberg B., Lundin E., Hallmans G., Zhang J.-X., Tidehag P., Erik Bach Knudsen K., Moazzami A.A., Aman P.: High-fiber rye diet increases ileal excretion of energy and macronutrients compared with low-fiber wheat diet independent of meal frequency in ileostomy subjects. *Food Nutr. Res.*, 2013, 57, 18519.
- [13] Jia B., Zou Y., Han X., Bae J.W., Jeon C.O.: Gut microbiome-mediated mechanisms for reducing cholesterol levels: implications for ameliorating cardiovascular disease. *Trends Microbiol.*, 2023, 31 (1), 76–91.
- [14] Koper J.E.B., Loonen L.M.P., Wells J.M., Troise A.D., Capuano, E., Fogliano, V.: Polyphenols and Tryptophan Metabolites Activate the Aryl Hydrocarbon Receptor in an in vitro Model of Colonic Fermentation. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2019, 63 (3), 1800722.
- [15] Kurina I., Popenko A., Klimenko N., Koshechkin S., Chuprikova L., Filipenko M., Tyakht A., Alexeev D.: Development of qPCR platform with probes for quantifying prevalent and biomedically relevant human gut microbial taxa. *Molecular and Cellular Probes*, 2020, 52, 101570.
- [16] Martínez-López A.L., Carvajal-Millan E., Canett-Romero R., Prakash S., Rascón-Chu A., López-Franco Y.L., Lizardi-Mendoza J., Micard V.: Arabinoxylans-Based Oral Insulin Delivery System Targeting the Colon: Simulation in a Human Intestinal Microbial Ecosystem and Evaluation in Diabetic Rats. *Pharmaceuticals*, 2022, 15 (9), 1062.
- [17] Molly K., Vande Woestyne M., Verstraete W., 1993. Development of a 5-step multi-chamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1993, 39 (2), 254–258.
- [18] Molly K., Woestyne M.V., Smet I.D., Verstraete W.: Validation of the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME) Reactor Using Microorganism-associated Activities. *Microbial Ecol. Health Dis.*, 1994, 7 (4), 191–200.
- [19] Narodowy Fundusz Zdrowia: Profilaktyka cholesterolowa. [on line]. 2021, Narodowy Fundusz Zdrowia, Małopolski Oddział Wojewódzki w Krakowie. Dostęp w internecie [2.06.2023] <https://www.nfz-krakow.pl/dla-pacjenta/aktualnosci/sroda-z-profilaktyka-profilaktyka-cholesterolowa,512.html>
- [20] Oguntoye M., Ezekiel O., Oridupa O.: Provitamin A cassava hydrolysate with *Lactobacillus rhamnosus* GG regulates weight gain, lipids and postprandial glycemia in wistar rats and humans. *Nutr. Food Sci.*, 2021, 52 (2), 197–212.
- [21] Pham V.T., Steinert R.E., Duysburgh C., Ghyselinck J., Marzorati M., Dekker P.J.T.: In Vitro Effect of Enzymes and Human Milk Oligosaccharides on FODMAP Digestion and Fecal Microbiota Composition. *Nutrients*, 2023, 15 (7), 1637.

- [22] Pinart M., Dötsch A., Schlicht K., Laudes M., Bouwman J., Forslund S.K., Pischon T., Nimptsch K.: Gut Microbiome Composition in Obese and Non-Obese Persons: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 2021, 14 (1), 12.
- [23] Polskie Towarzystwo Diabetologiczne.: Terapia Behavioralna. In: Zalecenia Kliniczne Dotyczące Postępowania u Chorych Na Cukrzycę. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. Eds. L. Czupryniak, *Current Topics in Diabetes. Official Journal of Diabetes in Poland.*, Warszawa 2022, ss. 21–26.
- [24] Possemiers S., Verthé K., Uyttendaele S., Verstraete W.: PCR-DGGE-based quantification of stability of the microbial community in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2004, 49 (3), 495–507.
- [25] ProDigest.: *TWINSHIME Installation and Operating Manual.* ProDigest, Gent, Belgium.
- [26] Reynolds A.N., Akerman A., Kumar S., Diep Pham H.T., Coffey S., Mann J.: Dietary fibre in hypertension and cardiovascular disease management: systematic review and meta-analyses. *BMC Medicine*, 2022, 20 (1), 139.
- [27] Sandberg A.S., Ahderinne R., Andersson H., Hallgren B., Hultén L.: The effect of citrus pectin on the absorption of nutrients in the small intestine. *Human Nutrition. Clin. Nutr.*, 1983, 37 (3), 171–183.
- [28] Stupnicki R., Tomaszewski P.: Wskaźnik masy ciała a zawartość tkanki tłuszczowej u dorosłych. *Hygeia Public Health*, 2016, 51 (4), 335–338.
- [29] Van de Wiele T., Van den Abbeele P., Ossieur W., Possemiers S., Marzorati M.: The Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®). In.: *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models.* Eds. K. Verhoeckx, P. Cotter, I. López-Expósito, C. Kleive-land, T. Lea, A. Mackie, T. Requena, D. Swiatecka, H. Wichers, Springer International Publishing, Cham, Switzerland 2015, pp. 305–317.
- [30] Van den Abbeele P., Belzer C., Goossens M., Kleerebezem M., De Vos W.M., Thas O., De Weirdt R., Kerckhof F.M., Van de Wiele T.: Butyrate-producing *Clostridium* cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *The ISME Journal*, 2013, 7 (5), 949–961.
- [31] Wu G.D., Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., Chen Y.Y., Keilbaugh S.A., Bewtra M., Knights D., Walters W.A., Knight R., Sinha R., Gilroy E., Gupta K., Baldassano R., Nessel L., Li H., Bushman F.D., Lewis J.D.: Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science*, 2011, 334 (6052), 105–108.


ZMIANY W MIKROBIOMIE CZŁOWIEKA ORAZ W SYMULATORZE LUDZKIEGO EKOSYSTEMU DROBNOUSTROJÓW JELITOWYCH (SHIME®) W ODPOWIEDZI NA DIETĘ I SUPLEMENTACJĘ PROBIOTYKAMI

Streszczenie

Wprowadzenie. Symulator ekosystemu drobnoustrojów jelitowych człowieka (SHIME®) służy do badania zachowania ludzkiego mikrobiomu w odpowiedzi na różne czynniki. Celem tego badania było jednocześnie zademonstrowanie zmian w mikrobiomie ludzkiego ochotnika oraz w systemie SHIME® w odpowiedzi na zmianę diety i terapii probiotycznej, z powodu niewielkiej liczby opublikowanych badań o podobnym projekcie.

Wyniki i wnioski. Terapia probiotykami spowodowała spadek poziomu insuliny i glukozy na czczo (odpowiednio o 18 % i 13 %), podczas gdy zwiększone spożycie błonnika w diecie eksperymentalnej wydawało się obniżać poziom trójglicerydów, cholesterolu całkowitego i LDL (o 27 %, 15 % i 14 %

odpowiednio) we krwi ochotniczki. W związku z poprawą stanu metabolicznego ochotniczki zaobserwowano zmiany w jej mikrobiomie. Mianowicie poprawa homeostazy glukozy doprowadziła do pojawienia się w kale bakterii z rodzaju *Akkermansia*, natomiast poprawa homeostazy lipidów doprowadziła do wzrostu liczebności bakterii z rodzaju *Bacteroides* i *Bifidobacterium* (odpowiednio ok. 2 i 4-krotnego). Podczas gdy zmiany w różnorodności mikrobiomu w płynie luminalnym SHIME® (L-SHIME) i w kale były częściowo podobne, mikrobiom ściany jelita SHIME (M-SHIME) zachowywał się inaczej. Zarówno L, jak i M-SHIME charakteryzowały się mikrobiomem, który różnił się składem w porównaniu z mikrobiomem ochotniczki w równoległych punktach pobierania próbek. Wyniki tego badania wskazują, że należy wprowadzić poprawki do standardowego protokołu eksperymentalnego SHIME®, aby umożliwić odwzorowanie różnorodności ludzkiego mikrobiomu i jego zmian w tym systemie.

Słowa kluczowe: mikrobiom, walidacja, sztuczny przewód pokarmowy, probiotyki, pozostałości pokarmowe 

PATRYCJA SKWAREK, MAŁGORZATA KARWOWSKA

WYTŁOKI POMIDOROWE JAKO INNOWACYJNY SKŁADNIK KIEŁBAS SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH O OBNIŻONEJ ZAWARTOŚCI AZOTANU(III) SODU

Streszczenie

Wprowadzenie. Celem badań była ocena wpływu liofilizowanego wytloku pomidorowego na cechy jakościowe surowo dojrzewającego wyrobu mięsnego z obniżonym dodatkiem azotanu(III) sodu. W pracy oceniono wpływ dodatku wytlóków pomidorowych na parametry fizykochemiczne, właściwości przeciwutleniające oraz bezpieczeństwo mikrobiologiczne kielbas surowo dojrzewających z obniżoną ilością azotanu(III) sodu (50 mg/kg) po 3 miesiącach przechowywania. Wyprodukowano 4 warianty doświadczalne kielbas z mięsa wieprzowego różniące się udziałem wytlóków pomidorowych: próbę kontrolną (bez dodatku wytlóków pomidorowych) oraz próby z 0,5-, 1- i 1,5-procentowym udziałem liofilizowanych wytlóków pomidorowych. Wyprodukowane kielbasy poddano analizie: pH, aktywności wody, parametrów barwy (CIE L* a* b*), zawartości amin biogennych. Oceniono również zmianę właściwości antyoksydacyjnych w zależności od ilości zastosowanego dodatku (w stosunku do rodników ABTS^{•+} i DPPH[•]).

Wyniki i wnioski. Przeprowadzono także analizy mikrobiologiczne w celu określenia bezpieczeństwa produktu. Produkty charakteryzowały się podobną aktywnością wody i pH w zakresie odpowiednio 0,83 ÷ 0,86 i 4,74 ÷ 4,93. Zaobserwowano wpływ dodatku wytlóków pomidorowych na wzrost aktywności przeciwutleniającej wraz ze wzrostem stężenia dodatku. Produkt z 1,5-procentowym dodatkiem liofilizowanych wytlóków pomidorowych charakteryzował się także najwyższym udziałem barwy czerwonej (a*), co wpłynęło na wygląd ogólny gotowego produktu. Próby kielbas z dodatkiem wytlóków pomidorowych charakteryzowały się również niższą zawartością putrescyny w porównaniu z próbą kontrolną. Uzyskane wyniki wskazują, iż dodatek wytlóków pomidorowych wpływa na udział barwy czerwonej oraz zwiększenie zdolności antyoksydacyjnych surowo dojrzewającego wyrobu mięsnego. Najbardziej obiecujące wyniki uzyskano dla kielbasy z 1,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych. Wyniki badań sugerują, że produkty uboczne pozyskiwane z przetwórstwa pomidorów mogą być stosowane w przemyśle mięsnym w produkcji wyrobów o obniżonym dodatku azotanu (III) sodu do poprawy ich aktywności antyoksydacyjnych.

Słowa kluczowe: kielbasy surowo dojrzewające, wytłoki pomidorowe, azotany, właściwości antyoksydacyjne

*Mgr inż. P. Skwarek, ORCID: 0000-0003-3602-0161; Dr hab., prof. UP M. Karwowska, ORCID: 0000-0002-7206-9715; Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704, Lublin;
Kontakt: e-mail: patrycja.skwarek@up.lublin.pl*

Wprowadzenie

Spśród wielu rodzajów artykułów spożywczych produkty mięsne stanowią istotny element w diecie współczesnego człowieka. Kielbasy należą do najstarszych produktów żywnościowych. Współcześnie na całym świecie produkowanych jest wiele rodzajów tych produktów. Związane jest to przede wszystkim z dostępnością różnych rodzajów mięsa jak również metodami przetwarzania przekazywanymi z pokolenia na pokolenie [8]. Jednak szczególne znaczenie dla konsumentów mają kielbasy surowo dojrzewające fermentowane, które cenione są ze względu na właściwości organoleptyczne oraz wartość odżywczą [7]. Właściwości organoleptyczne tych produktów są wynikiem wielu zmian zachodzących w surowcach i składnikach receptury, dzięki aktywności enzymów tkanki mięsnej i obecnych mikroorganizmów [29].

Pomimo rosnącej popularności fermentowanych wyrobów mięsnych, przemysł mięsny znajduje się pod presją zarówno konsumentów, jak i dietetyków, aby wprowadzać w przetwórstwie mięsa innowacje w celu podnoszenia wartości odżywczej przetworów mięsnych [8]. Jedną ze współczesnych strategii jest ograniczenie lub eliminowanie dodatków syntetycznych, głównie azotanów (III) i (V) sodu [29]. Jednak eliminacja tych związków jest dużym wyzwaniem i prowadzi do pewnych problemów technologicznych ze względu na wielokierunkowe funkcje, jakie pełnią one w produktach mięsnych. Odgrywają bowiem ważną rolę w hamowaniu rozwoju drobnoustrojów, nadają charakterystyczny kolor i smak przetworom mięsnym, ale także ograniczają procesy utleniania [21]. Biorąc więc pod uwagę wielokierunkowe właściwości azotanów (III) i (V) sodu, badacze poszukują potencjalnych alternatyw. Wśród nich wiele uwagi poświęcono związkom bioaktywnym, których źródłem mogą być surowce pochodzenia roślinnego. Istnieją bowiem dowody na to, iż związki te ekstrahowane ze źródeł naturalnych posiadają właściwości przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwbakteryjne [12]. Jednym z przykładów surowców bogatych w związki bioaktywne są pomidory, a w szczególności produkty uboczne ich przetwórstwa, takie jak wytloki pomidorowe. Są one doskonałym źródłem karotenoidów, których spożycie przynosi wiele korzyści dla organizmu ludzkiego. Zarówno skórki, jak i nasiona pomidorów bogate są głównie w likopen, β -karoten oraz luteinę. Przetwórstwo pomidorów generuje duże ilości produktów ubocznych, dlatego też pozyskiwanie karotenoidów ze skórki pomidora, mogłoby być dobrym rozwiązaniem pomagającym ograniczyć straty powstające w przetwórstwie żywności, które wpisują się w ideę trendu „zero waste” [6]. Bezpośrednie dodanie wytlóków pomidorowych do żywności, takiej jak produkty mięsne może być także obiecującym sposobem na zaspokojenie wciąż rosnącego zapotrzebowania na naturalne przeciwutleniacze [2]. W tym kontekście zastosowanie wytlóków pomidorowych w produktach mięsnych w celu redukcji dodatku azotanu (III) sodu poprawy barwy oraz zwiększenia aktywności przeciwutleniającej produktów jest ciekawym i nowatorskim rozwiązaniem.

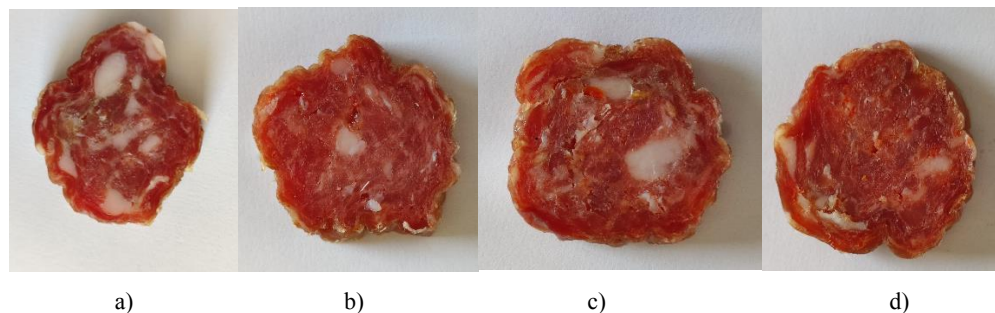
Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu dodatku wytlóków pomidorowych na parametry fizykochemiczne oraz właściwości przeciwutleniające surowo dojrzewających kielbas o obniżonym dodatku azotanu(III) sodu.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły surowo dojrzewające kielbasy wyprodukowane w Katedrze Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w warunkach półtechnicznych. Produkty mięsne wytworzono z mięśni szynki oraz słoniny wieprzowej pochodzących od polskich tuczników rasy Wielka Biała Polska, pozyskanych z miejscowej ubojni w 48 h po uboju. Wyprodukowano cztery warianty kielbas z obniżonym dodatkiem azotanu (III) sodu (50 mg kg^{-1}) w stosunku do ilości dopuszczalnej zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (UE) nr 1129/2011 [11].

Jako składniki dodatkowe do produkcji kielbas wykorzystano rozdrobnione wytlóki pomidorowe (nasiona i skórki), które wcześniej poddano procesowi liofilizacji. Liofilizowane wytlóki pomidorowe charakteryzowały się właściwościami antyoksydacyjnymi w zakresie od $0,112 \text{ mg Trolox eqv. g}^{-1}$ w badaniach z rodnikiem ABTS⁺ do $0,120 \text{ mg Trolox eqv. g}^{-1}$ w badaniach z rodnikiem DPPH[•]. Średnia całkowita zawartość fenoli (TPC) wytlóków wynosiła $4,080 \text{ mg gallic acid eqv. g}^{-1}$ [26]. Zawartość składników bioaktywnych, w tym likopenu oraz beta-karotenu, oznaczona w liofilizowanych wytlókach pomidorowych była na poziomie odpowiednio $0,74 \text{ mg/100 g}$ i $0,68 \text{ mg/100 g}$. Do każdego wariantu dodano także $0,6 \%$ glukozy i $2,8 \%$ mieszaniny peklującej (sól morską + azotan(III) sodu) oraz komercyjne kultury starterowe (Moguntia, Bessa START). Według deklaracji producenta w skład mieszanki wchodziły: *Staphylococcus xylosus* oraz *Pediococcus pentosaceus*. Zgodnie z zaleceniami zastosowano je w ilości 30 g na 50 kg surowca mięsnego. Wychłodzony do temp. $2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ surowiec mięsny i tłuszczowy krojono, a następnie rozdrabniano przy użyciu wilka (KU2-3EK, Mesko-AGD Skarżysko-Kamienna, Polska), w którym zastosowano siatkę o średnicy otworów $0,01 \text{ m}$. Przygotowane surowce mięsne i tłuszczowe podzielono na cztery porcje i przygotowano cztery warianty kielbas: SK – próba kontrolna; STP $0,5 \%$ – próba z $0,5$ -procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; STP 1% – próba z 1 -procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; STP $1,5 \%$ – próba z $1,5$ -procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych. Wszystkie składniki mieszano z wykorzystaniem urządzenia typu KU2-3EK (Mesko-AGD, Skarżysko-Kamienna, Polska) z dołączonym mieszadłem typu R4 ($100 \text{ obr. min}^{-1}$, 3 min). Tak przygotowane farsze nadziewano w osłonki włókniste o średnicy 65 mm , formując batony o masie ok. 500 g . Następnie kielbasy ważono i zawieszano w komorze o kontrolowanej temperaturze i wilgotności (ITALFROST-DE RIGO-GS, Pszczyna, Polska) do uzyskania ubytku masy $30 \pm 3 \%$ (17 dni). Warunki produkcji obejmowały: Etap 1 – T $20 \div$

22 °C, RH 55 ÷ 65 %, 3 dni; Etap 2 – T 14 ÷ 16 °C, wilgotność względna 68 ÷ 75 %, 3 dni; Etap 3 – T 13 °C, RH 76 %, 11 dni. Po tym czasie próby pakowano próżniowo w woreczki z polietylenu o małej gęstości (LDPE) i przechowywano w temp. 4 °C przez 3 miesiące (90 dni).



Fot. 1. Przekrój kielbas po okresie chłodniczego przechowywania (90 dni): a) próba kontrolna; b) próba z 0,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; c) próba z 1-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; d) próba z 1,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych.

Fig. 1. Cross-section of sausages after cold storage (90 days): a) control sample; b) sample with 0.5 % addition of tomato pomace; c) sample with 1 % addition of tomato pomace; d) sample with 1.5 % addition of tomato pomace.

Pomiar pH wykonywano w wodnych homogenatach produktów za pomocą pH-metru cyfrowego (CPC-501 Elmetron, Zabrze, Polska) wyposażonego w czujnik temperatury oraz elektrodę pH (ERH-111 Hydromet, Gliwice, Polska).

Aktywność wody (a_w) mierzono dla reprezentatywnych próbek pobranych po wcześniejszym rozdrobieniu całych batonów z poszczególnych partii produktów za pomocą analizatora aktywności wody (Novasina AG, Lachen, Szwajcaria). Analizator został skalibrowany standardami wilgotności Novasina SAL-T (33 %, 75 %, 84 % i 90 % wilgotności względnej).

Pomiar barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ wykonano za pomocą kolorymetru X-Rite 8200 (X-Rite, Inc., Grand Rapids, MI, USA) na przekrojach kielbas (bezpośrednio po wycięciu prób) metodą odbiciową wykorzystując próby o grubości ok. 50 mm. Każdorazowo przed użyciem kolorymetr był kalibrowany. Średnica pola pomiarowego wynosiła 12 mm. Pomiar prowadzono w zakresie od 360 do 740 nm. Jako źródło światła zastosowano oświetlacz D65 i standardowy obserwator kolorymetryczny 10°. Wyniki wyrażono w jednostkach systemu CIE $L^*a^*b^*$ [10]. Dla każdej próby wykonano pomiary w trzech miejscach przekroju. Całkowitą różnicę barwy (ΔE) podczas przechowywania obliczono zgodnie z AMSA [1].

Analizę amin biogennych (BA) przeprowadzono przy użyciu analizatora aminokwasów AAA 500 (Ingos, Praha, Czechy), wyposażonego w kolumnę jonowymienną

Ostion LG ANB (7×0 , 37 °C). Rozdział prowadzono przez stopniową elucję gradientową z użyciem buforów cytrynowych Na^+/K^+ . Roztwory BA przygotowano z buforem rozcieńczającym złożonym z 1,5 mM NaN_3 , 197 mM NaCl , i 73 mM kwasu cytrynowego w wodzie Milli-Q. System składał się z napełniającej kolumny chromatograficznej i stalowej kolumny wstępnej, dwóch pomp chromatograficznych do transportu buforów elucyjnych i odczynnika do derywatywacji, chłodzonej karuzeli na próbki, zaworu dozującego, reaktora termicznego, detektora Vis oraz chłodzonej komory do odczynnika do derywatywacji. Objętość wstrzykniętej próbki wynosiła 100 μL . Temperaturę reaktora ustawiono na 120 °C. Zawartość BA (histaminy, tyraminy, putrescyny, kadaweryny, spermidyny, agmatyny i sperminy) oznaczono w odniesieniu do wzorców aminowych dostarczonych przez firmę Ingos (Czechy). Stężenia BA podano w mg kg^{-1} produktu.

Właściwości antyoksydacyjne względem rodnika ABTS^{++} i DPPH^{\bullet} mierzono zgodnie z metodą opisaną przez Junga i wsp. [20], Ferysiuk i wsp. [18] oraz Erela [15] oraz metodą, którą zastosowali: Blois [4], Jung i i wsp. [20], Ferysiuk i wsp. [18] z niewielkimi modyfikacjami.

Analizy mikrobiologiczne obejmowały liczbę bakterii fermentacji mlekowej (LAB), bakterii *Enterobacteriaceae* (EB) oraz *Escherichia coli* (EC). Analizy wykonano przy użyciu automatycznego systemu zliczania drobnoustrojów TEMPO®^{LAB} (Biomérieux, TEMPO® System, Marcy l'Etoile, Francja). Do oznaczeń mikrobiologicznych wykorzystano oryginalne testy TEMPO® do oznaczania liczby bakterii kwasu mlekowego (TEMPO LAB), *Enterobacteriaceae* (TEMPO EB) oraz *Escherichia coli* (TEMPO EC) w produktach spożywczych. Warunki inkubacji zastosowane w testach TEMPO LAB, TEMPO EB i TEMPO EC były następujące: czas inkubacji 40 ÷ 48 h (LAB), 22–27 h (EB, EC); temperatura inkubacji: 37 °C (LAB) i 35 °C (EB, EC). Wyniki wyrażono jako $\log \text{CFU g}^{-1}$.

Doświadczenie przeprowadzono na dwóch partiach surowca. Wszystkie pomiary wykonano w minimum 3 powtórzeniach. Wartości analizowanych zmiennych przedstawiono za pomocą średniej \pm odchylenia standardowe. Normalność rozkładu zmiennych w badanych grupach sprawdzono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Różnice między grupami oceniano za pomocą testu ANOVA (wraz z testem post-hoc RIR Tukeya), a w przypadku niespełnienia warunków jego zastosowania testem Kruskala-Wallisa. Przyjęto poziom istotności $p < 0,05$, wskazujący na istnienie istotnych statystycznie różnic lub zależności. Bazę danych oraz analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o program komputerowy Statistica 9.1 (StatSoft, Polska).

Wyniki i dyskusja

Wartości pH i aktywności wody (a_w) doświadczalnych kielbas z różnym poziomem dodatku wytlóków pomidorowych po okresie 3 miesięcy chłodniczego przecho-

wywania (90 dni) przedstawiono w tabeli 1. Próby kielbas zawierające dodatek wytlóków pomidorowych charakteryzowały się statystycznie niższymi wartościami pH w porównaniu z próbą kontrolną. Wartości kwasowości dla wszystkich prób doświadczalnych były typowe dla produktów mięsnych fermentowanych i kształtowały się w zakresie $4,74 \div 4,93$. Podobne zależności zaobserwowali także Eyiler i Oztan [16], którzy stwierdzili, iż wraz ze wzrostem stężenia proszku pomidorowego zwiększał się również spadek pH w wyrobach mięsnych. Jest to prawdopodobnie związane z niskim pH proszku pomidorowego (pH $4,48 \div 5,02$). Kwasowość kielbas po okresie chłodniczego przechowywania opisana w niniejszej pracy była nieznacznie niższa w porównaniu do uzyskanej po zakończeniu procesu produkcji zgodnie z wynikami opublikowanymi przez autorów w poprzedniej pracy [26]. W przypadku aktywności wody zaobserwowano odwrotną zależność w porównaniu do pH. Próba wyrobu mięsnego z 1,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych charakteryzowała się najwyższą wartością tego parametru. Aktywność wody doświadczalnych kielbas kształtowała się w zakresie $0,83 \div 0,86$. Uzyskane wartości omawianego parametru były niższe niż uzyskane w surowo dojrzewających kielbasach analizowanych po zakończonym procesie produkcyjnym [26]. Aktywność wody we wszystkich wariantach wyprodukowanych kielbas doświadczalnych była niższa niż minimalna niezbędna do rozwoju większości patogennych mikroorganizmów [22], co jest pozytywnym zjawiskiem w kontekście trwałości i bezpieczeństwa produktów.

Tabela 1. Wartości pH i aktywności wody (a_w) surowo dojrzewających kielbas po przechowywaniu (90 dni)

Table 1. pH values and water activity (a_w) of dry fermented sausages after storage (90 days)

Parametr Parameter	SK	STP 0,5 %	STP 1 %	STP 1,5 %
pH	$4,93^b \pm 0,03$	$4,77^a \pm 0,02$	$4,75^a \pm 0,01$	$4,74^a \pm 0,01$
a_w	$0,83^a \pm 0,002$	$0,85^{ab} \pm 0,004$	$0,84^a \pm 0,01$	$0,86^b \pm 0,01$

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values \pm standard deviation; $n = 3$; Warianty / Variants: SK – próba kontrolna; STP 0,5 % – próba z 0,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; STP 1 % – próba z 1-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych; STP1,5 % – próba z 1,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych. SK – control sample; STP 0,5 % – sample with 0,5 % addition of tomato pomace; STP 1 % – sample with 1 % addition of tomato pomace; STP1,5 % – sample with 1,5% addition of tomato pomace; a - c – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi małymi literami różnią się statystycznie istotnie (w obrębie danej cechy) przy $p < 0,05$ / mean values in rows denoted by different small superscript letters differ statistically significantly (within a given characteristic) at $p < 0.05$.

W tabeli 2 przedstawiono ilość zidentyfikowanych amin biogennych w doświadczalnych kielbasach surowo dojrzewających po okresie chłodniczego przechowywania (90 dni). Wykazano obecność dwóch amin (putrescyny i kadaweryny) we wszystkich próbach doświadczalnych. Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w zawartości ($p \leq 0.05$) pierwszej z nich pomiędzy próbami. Próby z dodatkiem wytlóków pomidorowych charakteryzowały się istotnie niższą zawartością putrescyny w porównaniu z próbą kontrolną. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem udziału dodatku zmniejszała się ilość tej aminy biogennej. Nie zaobserwowano jednak istotnych statystycznie różnic w przypadku kadaweryny. Zawartość putrescyny kształtowała się w zakresie odpowiednio 60 - 120 mg kg⁻¹. Zawartość kadaweryny była taka sama dla wszystkich doświadczalnych kielbas (90 mg kg⁻¹). Całkowita zawartość amin biogennych wyrażona wartościami średnimi w surowo dojrzewających kielbasach wynosiła od 150 mg kg⁻¹ dla próby STP 1,5% do 210 mg kg⁻¹ dla próby SK. De Mey i wsp. [13] porównując zawartość amin biogennych w handlowych kielbasach fermentowanych, uzyskali wyższe stężenia dla obydwu amin (putrescyna: 316 mg kg⁻¹; kadaweryna: 614 mg kg⁻¹). Podobne wyniki uzyskali Borrajo i wsp. [5]. Autorzy ci zauważyli jednak odwrotny do obserwowanego w niniejszych badaniach trend w zawartości putrescyny i kadaweryny, których najmniej było w próbach kielbas z dodatkiem nasion chia i czarnuszki. Odnosząc się natomiast do wyników uzyskanych dla kielbas analizowanych po zakończonym procesie produkcyjnym [26] można zauważyć, iż stężenie putrescyny było wyższe dla kielbas po przechowywaniu, zaś niższe w przypadku zawartości kadaweryny. W kontekście narażenia fermentowanych produktów mięsnych na obecność amin biogennych wyzwaniem dla przemysłu mięsnego jest opracowanie technologii uzyskiwania produktów wolnych lub prawie wolnych od tych związków [19]. Zastosowane rozwiązanie polegające na wzbogaceniu produktów w roślinne dodatki technologiczne wpisuje się w ogólnoswiatowy trend obserwowany w badaniach naukowych w ostatnich latach [27]. W tym kontekście podsumowując uzyskane w niniejszej pracy wyniki można stwierdzić, iż dodatek wytlóków pomidorowych jest ciekawą alternatywą dla obniżenia zawartości putrescyny w wyrobach mięsnych.

Tabela 2. Aminy biogenne surowo dojrzewających kielbas [mg kg⁻¹]Table 2. Biogenic amines of dry fermented sausages [mg kg⁻¹]

Parametr / Parameter	SK	STP 0,5 %	STP 1 %	STP 1,5 %
Putrescyna / Putrescine	120,0 ^c ± 10,0	90,0 ^b ± 10,0	61,0 ^{ab} ± 20,0	60,0 ^a ± 10,0
Kadaweryna / Cadaverine	90,0 ^a ± 10,0	90,0 ^a ± 10,0	90,0 ^a ± 10,0	90,0 ^a ± 10,0
Łącznie / Total	210,0 ^b ± 10,0	180,0 ^{ab} ± 10,0	151,0 ^a ± 20,0	150,0 ^a ± 40,0

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

W tabeli 3 przedstawiono wyniki pomiarów parametrów barwy badanych prób po 90 dniach przechowywania. Zastosowanie wyłoków pomidorowych miało istotny wpływ na udział barwy czerwonej (a^*) uzyskanych wyrobów surowo dojrzewających. Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy próbą kontrolną a próbą z dodatkiem 1,5 % surowca roślinnego. Zaobserwowano także tendencję wzrostową tego parametru wraz ze wzrostem stężenia dodatku. Podobne zależności zaobserwowali także Eyiler i Oztan [16], którzy stwierdzili, iż proszek pomidorowy pełnił funkcję barwnika, a tym samym zwiększał wartość a^* w analizowanych próbach. Bardzo zbliżone wyniki uzyskali również Savadkoohi i wsp. [25]. Porównując natomiast wyniki kielbas analizowanych po zakończeniu procesu produkcji [26] można stwierdzić, iż kielbasy po 90-dniowym okresie chłodniczego przechowywania charakteryzowały się podobnymi wartościami wszystkich parametrów barwy (L^* a^* b^*), co świadczy o stabilności barwy produktów podczas przechowywania. W przypadku kielbas poddawanych analizie po zakończonej produkcji zaobserwowano natomiast statystycznie istotne różnice w przypadku parametrów L^* oraz b^* [26]. Podsumowując wyniki analizy barwy można stwierdzić, że dodatek wyłoków pomidorowych miał wpływ na parametry barwy, przyczyniając się tym samym do poprawy ogólnego wyglądu wyrobu mięsnego i potencjalnie zwiększenia akceptacji konsumentów.

Tabela 3. Parametry barwy CIE L^* a^* b^* surowo dojrzewających kielbas

Table 3. CIE L^* a^* b^* color parameters of dry fermented sausages

Parametr barwy Color parameter	SK	STP 0,5 %	STP 1 %	STP 1,5 %
L^*	52,30 ^a ± 1,59	48,62 ^a ± 1,23	48,02 ^a ± 3,85	47,05 ^a ± 4,46
a^*	6,58 ^a ± 1,52	11,29 ^{ab} ± 0,19	13,15 ^{ab} ± 1,99	13,93 ^b ± 1,66
b^*	10,56 ^a ± 3,19	11,01 ^a ± 1,33	12,13 ^a ± 1,59	12,46 ^a ± 1,01
ΔE	-	5,99	7,99	9,22

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

Wyniki aktywności przeciwutleniającej wobec rodnika $ABTS^{++}$ oraz $DPPH^{\cdot}$ przedstawiono w tabeli 4. Stwierdzono istotne różnice właściwości przeciwutleniających pomiędzy próbami surowo dojrzewających kielbas. Wykazano, iż wraz ze wzrostem stężenia dodatku wyłoków pomidorowych wzrasta także aktywność antyoksydacyjna wyrobów mięsnych. Aktywność prób wyrobów mięsnych wobec rodnika $DPPH^{\cdot}$ kształtowała się w zakresie 0,033 ÷ 0,080 mg ekwiwalentu Trolox g^{-1} zaś dla rodnika $ABTS^{++}$ 0,064 ÷ 0,130 mg ekwiwalentu Trolox g^{-1} . Obserwacje te są zgodne z wynikami innych autorów oceniających wpływ surowców roślinnych bogatych w związki bioaktywne na aktywność przeciwutleniającą produktów mięsnych. Riazi i wsp. [24] wykazali, że produkty mięsne o obniżonej zawartości azotanów z dodatkiem wyłoków

z winogron wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Również Ramli i wsp. [23] zauważyli podobną tendencję. Surowo dojrzewające kielbasy z dodatkiem wytlóków pomidorowych analizowane po zakończonej produkcji charakteryzowały się większą aktywnością przeciwutleniającą wobec rodnika DPPH[•] w porównaniu z tymi po okresie chłodniczego przechowywania i podobną w przypadku rodnika ABTS^{•+} [26]. Jednak w obu tych przypadkach stwierdzono, iż próby z dodatkiem wytlóków pomidorowych wykazywały silniejsze właściwości antyoksydacyjne. Dodatek wytlóków pomidorowych w ilości 1,5 % istotnie zwiększał aktywność przeciwutleniającą produktu mięsnego w porównaniu z dodatkiem 0,5 % wytlóków pomidorowych. Na podstawie uzyskanych wyników można zatem stwierdzić, że wytloki pomidorowe mogą być składnikiem żywności funkcjonalnej. Dzięki swoim właściwościom przeciwutleniającym mogą być stosowane w przemyśle mięsnym do poprawy aktywności antyoksydacyjnej produktów mięsnych z obniżonym dodatkiem azotanów (III) sodu.

Tabela 4. Aktywność przeciwutleniająca surowo dojrzewających kielbas

Table 4. Antioxidant activity of dry fermented sausages

Parametr / Parameter	SK	STP 0,5 %	STP 1 %	STP 1,5 %
DPPH [•] [mg ekw. Trolox/ g ⁻¹]	0,033 ^a ± 0,001	0,051 ^b ± 0,004	0,060 ^b ± 0,002	0,080 ^c ± 0,005
DPPH [•] [mg Trolox eqv. g ⁻¹]				
ABTS ^{•+} [mg ekw. Trolox/ g ⁻¹]	0,064 ^a ± 0,01	0,100 ^b ± 0,003	0,123 ^c ± 0,001	0,130 ^c ± 0,001
ABTS ^{•+} [mg Trolox eqv. g ⁻¹]				

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

Wyniki analiz mikrobiologicznych zostały przedstawione w tabeli 5. Nie zaobserwowano różnic w liczbie *E. Coli* oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* pomiędzy doświadczalnymi próbkami wyrobów mięsnych. Ich liczba w doświadczalnych kielbasach surowo dojrzewających po okresie chłodniczego przechowywania wynosiła < 10 CFU g⁻¹. Analiza statystyczna wykazała natomiast istotne różnice w liczebności bakterii fermentacji mlekowej. Zaobserwowano bowiem, iż próba z 1,5-procentowym dodatkiem wytlóków pomidorowych charakteryzowała się statystycznie mniejszą liczbą bakterii kwasu mlekowego w porównaniu z pozostałymi próbkami. Porównując uzyskane w niniejszej pracy wyniki z wynikami innych autorów można zaobserwować, iż większość z nich odnotowała spadek liczby bakterii z grupy *Enterobacteriaceae* jako efekt dodatku surowców roślinnych bogatych w składniki bioaktywne [3, 5, 26]. Liczba bakterii fermentacji mlekowej w doświadczalnych surowo dojrzewających wyro-

bach mięsnych z dodatkiem wyłoków pomidorowych kształtowała się w zakresie $7,24 \div 7,96 \log \text{CFU g}^{-1}$. Uzyskane wartości świadczą o prawidłowym przebiegu procesu fermentacji podczas produkcji wyrobów mięsnych. Zaobserwowano, że dodatek wyłoków pomidorowych na poziomie 1,5 % hamował namnażanie się bakterii z tej grupy. Odwrotną zależność zaobserwowali Borrajo i wsp. [5], którzy wykazali, że dodatek nasion chia lub czarnuszki nasilał proliferację bakterii LAB. Porównując natomiast wyniki uzyskane dla kielbas analizowanych po zakończeniu produkcji [26] można zaobserwować, że liczba bakterii fermentacji mlekowej była nieznacznie niższa w przypadku wyrobów poddawanych analizie po okresie chłodniczego przechowywania. Obniżenie liczby bakterii mogło być spowodowane nagromadzeniem kwasu mlekowego, który hamował rozwój bakterii mlekowych, o czym może również świadczyć niższe pH prób kielbas fermentowanych wyprodukowanych z dodatkiem wyłoków pomidorowych.

Tabela 5. Wyniki analiz mikrobiologicznych surowo dojrzewających kielbas

Table 5. The results of microbiological analyzes of dry fermented sausages

Bakteria / Bacteria	SK	STP 0,5 %	STP 1,0 %	STP 1,5 %
<i>Enterobacteriaceae</i> [log CFU g ⁻¹]	< 10	< 10	< 10	<1 0
<i>Lactic acid bacteria</i> [log CFU g ⁻¹]	7,77 ^b ± 0,11	7,96 ^b ± 0,28	7,61 ^{ab} ± 0,09	7,24 ^a ± 0,14
<i>Escherichia coli</i> [log CFU g ⁻¹]	< 10	< 10	< 10	< 10

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

Włączenie surowca bogatego w związki bioaktywne, takie jak wyłoki pomidorowe podczas produkcji surowo dojrzewających kielbas stanowi jedną z nowatorskich strategii rozwoju produktów mięsnych z obniżonym dodatkiem azotanów(III) i (V) sodu zgodnie z ideą „czystej etykiety”. Wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach wskazują, że redukcja azotynów do poziomu 50 mg kg⁻¹ z jednoczesnym dodatkiem wyłoków pomidorowych pozwala na uzyskanie fermentowanych kielbas surowo dojrzewających o dobrych właściwościach fizykochemicznych z jednoczesnym podniesieniem ich właściwości antyoksydacyjnych. Zmniejszenie dodatku azotanów(III) sodu do poziomu 50 mg kg⁻¹ zmniejsza także ryzyko tworzenia N-nitrozozwiązków, a dodatek wyłoków pomidorowych bogatych w związki o działaniu przeciwutleniającym podwyższa aktywność przeciwutleniającą produktów mięsnych. Zastosowane wyłoki pomidorowe charakteryzowały się bowiem silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi wobec rodnika ABTS^{•+} oraz DPPH[•], jak również miały w swoim składzie dużą całkowitą zawartość fenoli [24]. Mogą być one zatem stosowane jako naturalny

dodatek do produkcji kielbas surowych dojrzewających z obniżonym dodatkiem azotanu(III) sodu. Możliwość wykorzystania tego produktu ubocznego w przetwórstwie mięsa wspiera działania w kierunku zmniejszenie strat żywności.

Wnioski

1. Dodatek wytlóków pomidorowych skutecznie zwiększył potencjał antyoksydacyjny surowo dojrzewających kielbas, co prawdopodobnie wynika z wzbogacenia produktów w związki fenolowe. Produkt zawierający 1,5 % dodatku wytlóków pomidorowych charakteryzował się najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi.
2. Zwiększenie stężenia dodatku wytlóków pomidorowych spowodowało zwiększenie udziału barwy czerwonej produktu mięsnego, co może mieć pozytywny wpływ na akceptację konsumentów.
3. Dodatek wytlóków pomidorowych skutecznie obniżał zawartość putrescyny oraz całkowitą zawartość amin biogennych w analizowanych wyrobach mięsnych, co pozytywnie wpływa na bezpieczeństwo produktów zmniejszając potencjalne ryzyko powstawania N-nitrozoamin.
4. Dodatek surowca roślinnego na poziomie 1,5 % hamował wzrost bakterii kwasu mlekowego w kielbasach surowo dojrzewających, co może być efektem nagromadzenia kwasu mlekowego.

Literatura

- [1] AMSA. Meat Color Measurements Guidelines; American Meat Science Association: Savoy, IL, USA, 2012.
- [2] Azabou S., Abid Y., Sebii H., Felfoul I., Gargouri A., Attia H.: Potential of the solid-state fermentation of tomato by products by *Fusarium solani* pisi for enzymatic extraction of lycopene. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2016, 68, 280–287.
- [3] Bazargani-Gilani B., Aliakbarl J., Tajik H.: Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2015, 29, 280–287.
- [4] Blois M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958, 181, 1199–1200.
- [5] Borrajo P., Karwowska M., Stasiak D.M., Lorenzo J.M., Żyśko M., Solska E.: Comparison of the Effect of Enhancing Dry Fermented Sausages with *Salvia hispanica* and *Nigella sativa* Seed on Selected Physicochemical Properties Related to Food Safety during Processing. *Appl. Sci.*, 2021, 11, 9181.
- [6] Calvo M.M., Garcia M.L., Selgas M.D.: Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. *Meat Sci.*, 2008, 80, 167–172.
- [7] Campbell-Platt G.: Fermented meats - A world perspective. In.: *Fermented Meats*. Eds. G. Campbell-Platt, P.E. Cook. Blackie Academic & Professional, New York, USA, 1995, pp. 39–52.
- [8] Carballo J.: Sausages: Nutrition, Safety, Processing and Quality Improvement. *Foods*, 2021, 10, 890.

- [9] Cegiełka A.: "Clean label" as one of the leading trends in the meat industry in the world and in Poland- A review. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.*, 2020, 71, 43–55.
- [10] Commission Internationale de l'Eclairage: Recommendations on Uniform Colour Spaces, Colour Difference Equations, Psychometric Color Terms; Supplement No. 2; Bureal Central de la CIE: Paris, France, 1978.
- [11] Commission Regulation (EU). No. 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. *J. Eur. Union*, 2011, 295, 1–177.
- [12] De Andrade Lima M., Kestekoglou I., Charalampopoulos D., Chatzifragkou A.: Supercritical Fluid Extraction of Carotenoids from Vegetable Waste Matrices. *Molecules*, 2019, 24, 466.
- [13] De Mey E., De Klerck K., De Maere H.L., Derdelinckx G., Peeters M.C., Fraeye I., Heyden Y.V., Paelinck H.: The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat Sci.*, 2014, 96, 821–828.
- [14] dos Santos Cruxen C.E., Graciele C., Funck D., Haubert L., da Silva Dannenber D., de Lima Marques J., Chaves F.C., Silvaab W.P., Fiorentini A.M.: Selection of native bacterial starter culture in the production of fermented meat sausages: Application potential, safety aspects, and emerging technologies. *Food Res. Int.*, 2019, 122, 371–382.
- [15] Erel O.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.*, 2004, 37, 277–285.
- [16] Eyiler E., Oztan A.: Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2011, 44, 307–311.
- [17] Ferreres F., Taveira M., Pereira D.M., Valentão P., Andrade P.B.: Tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds: New flavonols and cytotoxic effect. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 2854–2861.
- [18] Ferysiuk K., Wójciak K.M., Materska M.: Phytochemical profile of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. and Graminis rhizoma and its influence on the bioactivity and shelf life of industrially produced pâté. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2020, 55, 1586–1598.
- [19] Grootveld M., Percival B.C., Zhang J.: Extensive chemometric investigations of distinctive patterns and levels of biogenic amines in fermented foods: Human health implications. *Foods*, 2020, 9, 1807.
- [20] Jung S., Choe J., Kim B., Yun H., Kruk Z.A., Jo C.: Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. *Meat Sci.*, 2010, 86, 520–526.
- [21] Ma L., Hu L., Feng X., Wang S.: Nitrate and nitrite in health and disease. *Aging Dis*, 2018, 9, 938–945.
- [22] Principles of preservation of shelf-stable dried meat products. [on line] USDA – United States Department of Agriculture. Dostęp w Internecie [24.10.2014]: https://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/FSRE_SS_7Principles.pdf
- [23] Ramli A.N.M., Manap N.W.A., Bhuyar P., Azelee N.I.W.: Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel powder extract and its application towards antibacterial and antioxidant activity on the preserved meat products. *Appl. Sci.*, 2020, 2, 1748.
- [24] Riazi F., Zeynali F., Hoseini E., Behmadi H., Savadkoohi S.: Oxidation phenomena and color properties of grape pomace on nitrite-reduced meat emulsion systems. *Meat Sci.*, 2016, 121, 350–358.
- [25] Savadkoohi S., Hoogenkamp Shamsi K., Farahnaky A.: Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meat-free sausage containing tomato pomace. *Meat Sci.*, 2014, 97, 410–418.
- [26] Skwarek P., Karwowska M.: Fatty Acids Profile and Antioxidant Properties of Raw Fermented Sausages with the Addition of Tomato Pomace. *Biomolecules*, 2022, 12(11), 1695.


- [27] Świder O., Wójcicki M., Roszko M.L.: Aminy biogenne – oszacowanie ryzyka spożycia i możliwości ograniczenia ich formowania w żywności fermentowanej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2021, 28, 2 (127), 21 – 35.
- [28] Toldrá F.: Biochemistry of fermented meat. In: *Food Biochemistry and Food Processing*. Eds. J. Wiley. Hoboken, NJ, USA, 2012, pp. 331–343.
- [29] Ursachi C.S., Perta-Crisan S., Munteanu F.D.: Strategies to improve meat products' quality. *Foods*, 2020, 9, 1883.

TOMATO POMACE AS AN INNOVATIVE INGREDIENT FOR NITRATE-REDUCED DRY FERMENTED SAUSAGES

S u m m a r y

Background. The aim of the study was to evaluate the effect of freeze-dried tomato pomace on the quality of dry fermented meat products with reduced nitrogen compounds. In this study, the effect of the addition of tomato pomace on the physicochemical parameters, antioxidant properties and microbiological safety of dry fermented sausages with reduced nitrate content after three months of storage was evaluated. Four experimental variants of pork sausages differing in the addition of tomato pomace were produced: a control sample and samples with 0.5 %, 1 % and 1.5 % addition of freeze-dried tomato pomace. The sausages produced were analyzed for: pH, water activity, color parameters (CIE L* a* b*), biogenic amine content. The change in antioxidant properties depending on the amount of additive used (in relation to ABTS⁺ and DPPH[•] radicals) was also evaluated. Microbiological analyses were also carried out to determine product safety.

Results and conclusion. The products were characterized by similar water activity and pH in the range of $0.83 \div 0.86$ and $4.74 \div 4.93$, respectively. The effect of tomato pomace addition was observed to increase antioxidant activity with increasing additive concentration. The product with 1.5% addition of freeze-dried tomato pomace also had the highest redness (a*), which affected the overall appearance of the finished product. Sausage samples with the addition of tomato pomace were also characterized by a lower putrescine content compared to the control sample. Thus, the results obtained indicate that the addition of tomato pomace affects the redness and increased antioxidant capacity of dry fermented meat products. The most promising results were obtained for dry fermented sausage with 1.5 % addition of tomato pomace. Therefore, the results suggest that tomato by-products can be used in the meat industry to reduce nitrates in meat products and improve their antioxidant activity.

Key words: dry fermented sausages, tomato pomace, nitrates, antioxidant properties 

ROBERT GAJDA

RELATIONSHIP BETWEEN FOOD INSECURITY FOR VARIABLE REASONS, PHYSICAL ACTIVITY AND SELECTED HEALTH SITUATIONS AMONG OLDER ADULTS IN POLAND: A CROSS-SECTIONAL STUDY

S u m m a r y

Background. As humans age, their level of physical activity declines, and the incidence of health problems and disability increases. In addition, the elderly experience food insecurity. The aim of the study was to establish the relationship between food insecurity for variable reasons, the level of physical activity and the incidence of metabolic diseases and those leading to loss of mobility. The study was conducted among 760 people aged 65 and older in late 2018 and early 2019 in two regions of Poland. Questions on food security were adapted based on the HFSS questionnaire and those on demographic characteristics, physical activity and selected health situations from the KomPAN questionnaire. Reasons for food insecurity were identified based on a principal component analysis (PCA). Ward's hierarchical classification of variables and logistic regression analysis were used to assess the relationship between variables. A chi-square test was used to verify differences between variables. A value of $p < 0.05$ was considered the threshold for significance.

Results and conclusion. Based on the PCA analysis, two factors were identified to describe the reasons for food insecurity. The first factor was termed „economic-social” reasons and the second one „spatial-health” reasons. The first factor was associated with moderate or high physical activity, a health situation that was the same as or better than that of a person’s peers, a normal body weight or lower prevalence of obesity and the absence of metabolic diseases and diseases that lead to loss of mobility. The second factor was associated with low or moderate physical activity, a health situation that was the same as or worse than that of a person’s peers, being overweight or obese, having at least one metabolic disease and having diseases leading to loss of mobility. The study confirmed that the „economic-social” reason for food insecurity is more prominent in people with a higher level of physical activity and better health, while the „spatial-health” reason is more prominent in people with a lower level of physical activity and poorer health.

Keywords: food insecurity, older adults, physical activity, BMI, metabolic diseases, impaired mobility

Introduction

Virtually all countries in the world are experiencing a trend toward an increase in the proportion of older people and an increase in their lifespan [8]. The results of the National Census of Population and Housing in Poland in 2021 revealed that the share of the population in the post-working age group (60/65 years and older) accounted for 22.8 % [30]. Although life extension is a positive development, it results in an increase in the number of elderly people at risk of various diseases and disabilities [49]. This situation is conditioned by several common factors.

The first one is a poor diet and related medical conditions [5, 54], such as overweight and obesity [4], metabolic syndrome [37] or malnutrition [20, 35].

The second one is low physical activity, which, like poor nutrition, results in metabolic diseases [11,70], but also in a loss of mobility [10]. Physical activity in the elderly can lead directly to healthier aging, a higher quality of life and reduction of cognitive impairment [15, 56]. Indirectly, physical activity in this subpopulation reduces the value of BMI, reducing the risk of metabolic diseases [53]. With age, there is a progressive loss of mobility, resulting in a higher risk of disability and mortality, as well as a reduction in quality of life and poorer psychosocial health [41, 57]. Reduced mobility can be related to both low physical activity [10] and chronic diseases, especially diseases of the musculoskeletal, nervous and cardiovascular systems [17, 36].

The third factor is the result of restrictions on physical and economic accessibility to food, which reduces food security for the elderly. The risk of food insecurity among the elderly is significant [27, 43] and its consequences are visible in their state of health [7].

The general health of the population in Poland deteriorates with age [28, 65]. A recent population-based study of this group (PolSenior2) indicated that not only age, but also other socio-demographic factors and functional status in basic and complex daily activities determine a health status. Lower education, widowhood, residence in eastern regions of Poland and a worse functional status are determining factors behind a worse health status [65]. No such differentiation was shown on the basis of gender or place of residence. Only earlier Polish studies reported that such a situation was more common among women than men and among rural residents than urban residents [6].

Maintaining well-being and health is a major challenge among the elderly [39]. In the context of a population growth in this group of people, it becomes necessary to identify and assess risk factors for quality of life and a health status [44, 52, 68]. Therefore, in order to develop conceptual models related to the health of the elderly, it is necessary to seek interdependencies and links between health and all of its determinants, especially because public health initiatives to improve the health of the population to date have been related to the prevention or treatment of chronic diseases without considering food security measures [47]. In planning such health-related conceptual

models, one should not forget about food security, as it is known to be related to physical activity levels [18, 46], nutritional status, the presence of malnutrition [26, 34–55] and chronic non-communicable (metabolic) diseases [19, 22, 34]. The relationship of food security to diseases leading to a loss of mobility and to self-assessed health remains debatable [18].

While the available studies have focused their attention on selected determinants of food security separately, the knowledge of the interrelationships between these factors is still insufficient in terms of both objective and subjective indicators. The use of a factor analysis allows for a more holistic view of perceptions of food insecurity among people who are highly vulnerable to it due to their characteristics (e.g. older age, a low socioeconomic status, low physical activity, a loss of health). The results will also allow for a more comprehensive application of strategies to improve the quality of life of older people [25].

Although the relationships among food security, physical activity levels [18, 46] and factors related to the health of the elderly [18, 19, 22, 26, 34, 42, 55] are known, there is a lack of research assessing the relationship between the causes for food insecurity and factors related to physical activity and health. To fill the gap in scientific research into the causes for food insecurity among the elderly and their relationship to physical activity and the incidence of metabolic diseases and those leading to a loss of mobility, it was hypothesized that reasons for food insecurity, such as long distances from home to food procurement sites and impaired food procurement associated with a loss of mobility, are more related to low physical activity, the incidence of metabolic diseases and diseases leading to a loss of mobility than reasons related to a lack of financial resources or a lack of social support. In this context, the aim of the study was to search for a link between food insecurity for various reasons, the level of physical activity and the incidence of metabolic diseases and those that lead to a loss of mobility.

Materials and methods of study

Study design and sample

This cross-sectional study was conducted in two regions of Poland, among people aged 65 and older, in late 2018 and early 2019. These regions are characterized by high cultural and economic diversity. In 2019, the Śląskie region reported a high Gross Domestic Product (GDP) at 102.3 % of medium GDP per capita, while the Świętokrzyskie region has the lowest GDP at 71.6 % of medium GDP per capita [29]. The study used arbitrary sampling, i.e. all senior citizen clubs in the Świętokrzyskie and Śląskie regions were asked to participate in the survey. The study also used a non-probabilistic sampling technique, i.e. snowball method sampling. The choice of the sampling methods aided in 1. the ability to reach a larger group of respondents, 2. increasing the dis-

person of the research sample, 3. recruiting reluctant people for the study, 4. increasing the economic efficiency of the study and 5. the use of references from known individuals rather than a known researcher in recruiting a research group. As a result, 1,150 questionnaires were distributed to 16 senior citizen clubs in both regions of Poland. Those who agreed to participate in the study were asked to distribute the questionnaire among their friends. Inclusion criteria for the study were age 65 and over, living in the community and representing a variety of households (living alone, with a partner or with family). The criterion for exclusion from the survey was to represent a household in which the survey had already been conducted, i.e. based on the following assumption: one surveyed person representing one household. A total of 798 questionnaires were collected, of which 36 were eliminated due to non-response. The final study sample consisted of 760 people. Demographic characteristics of the sample are shown in Table 1. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki [72]. Informed consent was obtained from all participants to participate in the study.

Table 1. Characteristics of the study sample

Tabela 1. Charakterystyka badanej próby

Characteristics / Charakterystyka		N*=760	%
Gender / Płeć	Women / Kobiety	527	69.3
	Men / Mężczyźni	233	30.7
Age / Wiek	65-74 years / 65-74 lata	531	69.9
	75 years and older / 75 lat i więcej	229	30.1
Place of residence Miejsce zamieszkania	Village / Wieś	244	32.1
	A city having fewer than 100,000 inhabitants / Miasto poniżej 100 000 mieszkańców	122	16.1
	A city having over 100,000 inhabitants / Miasto powyżej 100 000 mieszkańców	394	51.8
Region / Region	Świętokrzyskie	443	58.3
	Śląskie	317	41.7

Objaśnienia / Explanatory notes:

*N – number of respondents / liczba respondentów

Questionnaire

A proprietary survey questionnaire was used for the study, with questions assessing food insecurity in households of the elderly adapted based on the USDA's recommended (U.S. Department of Agriculture) HFSS questionnaire (U.S. Household Food Security Survey Module) [32]. Questions on demographic characteristics, physical activity and selected health situations were adapted based on a Polish questionnaire to study dietary habits and beliefs (KomPAN) [38]. To assess food insecurity in the last

month in a respondent's household, four questions were asked about 1. food shortage concerns (Have you been worried that the food in your place of residence will run out or has run out during the past month?), 2. the lack of basic food products (Did basic foodstuffs, e.g. bread, butter, milk, eggs etc., in your place of residence run out in the last month?), 3. the need to change the size or frequency of meals (Did the size or frequency of your meal intake decrease during the past month?) and 4. the need to skip meals (Did you have to skip any meals during the past month?). Each of these questions was considered for four reasons, i.e. 1. a lack of financial resources, 2. living too far from the food procurement place (a store, mall, bazaar, food bank or welfare center where free food is offered), 3. a lack of social support (from family, friends or social welfare centers) and 4. difficult food acquisition related to a loss of mobility (mobility problem, disability). The occurrence of food insecurity situations, taking into account the reasons for this insecurity, was assessed on a nominal dichotomous scale (YES/NO).

To describe the study group, questions (and answers) were asked about

1. Demographic characteristics: gender (women/men), age (65 † 74 years / 75 years and older), place of residence (village/ city having fewer than 100,000 inhabitants/city having over 100,000 inhabitants), region (świętokrzyskie / śląskie);
2. Physical activity: low (more than 70 % of the time during the day in a sitting or lying position), medium (About 50 % of the time during the day in a sitting/lying position and about 50 % of the time during the day on the move), high (more than 70 % of the day on the move or performing physical work involving heavy exertion);
3. Health situation: an assessment of a health status (lower than that of peers / the same as that of peers/better than that of peers), declared presence of metabolic diseases, e.g. hypertension, diabetes, dyslipidaemia and atherosclerotic diseases, obesity (yes/no) – if so, how many diseases at the same time (1/2/3 or more), declared presence of diseases leading to a loss of mobility (yes/no) and declared body weight and height, based on which the BMI was calculated. BMI categories were assigned according to World Health Organization guidelines: normal weight ($18.50 \leq \text{BMI} \leq 24.99 \text{ kg/m}^2$), overweight ($25.00 \leq \text{BMI} \leq 29.99 \text{ kg/m}^2$), obesity ($\text{BMI} \geq 30.00 \text{ kg/m}^2$) [71].

Statistical analysis

Counts and percentages were used to describe qualitative variables (categories). A chi-square test was used to verify differences between categories of variables [61].

Data on the identified root causes of food insecurity based on factor analysis using a principal component analysis (PCA) were taken from a previously authored publication entitled: "Food insecurity in the households of the Polish elderly: diversity in

the perception of its causes by demographic and socioeconomic characteristics" [23]. PCA used 16 variables to describe the causes for food insecurity included in the study (four reasons for each of the four situations describing food insecurity). Components with an eigenvalue of one were used to determine the number of factors and test scree plot. Two components (factors) were extracted and rotated using a Varimax transformation. Variables with factor loadings of at least 0.50 were included. Data in the analysis was confirmed by the Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) measure of sampling adequacy and Bartlett's sphericity test. The KMO value was found to be 0.892, and Bartlett's test was significant at $p < 0.0001$. The percentage of the total variance explained (%) was 61.0. The percentage of the total variance explained (%) by factors 1 and 2 was 249.9 and 11.1. As a result of the dicentyl division of the eigenvalues of the factors that emerged, two categories of factors were described: a lower dicentyl (low – cause of low importance) and an upper dicentyl (high – cause of high importance). Cluster analysis using Ward's hierarchical classification of variables and logistic regression analysis were used to assess the relationship between categories of factors (low and high importance of reasons for food insecurity) and physical activity and selected health situations [62]. Odds ratio (OR) values were calculated at the 95% confidence level. The reference group (OR = 1.00) was the lower dicentyl and all categories of variables characterizing the study group. A p-value of less than 0.05 was considered significant for all tests.

The statistical analysis was performed using STATISTICA statistical software (version 13.3 PL; StatSoft Inc., Tulsa, USA; StatSoft, Krakow, Poland).

Results

Characteristics of the factors affecting food insecurity for various reasons

Results of a principal component analysis presenting the correlation coefficients between each situation describing food insecurity for various reasons and the identified factors were taken from the author's earlier publication [23]. These factors have been described as 1. „economic-social“ reasons (food insecurity due to a lack of financial resources to buy food and a lack of social support from family, friends and welfare centers), 2. „spatial-health“ reasons (food insecurity due to a long distance between the place of residence and the place where food is procured, as well as an impediment to food procurement associated with a loss of mobility).

Relationship between factors in food insecurity for variable reasons, physical activity and selected health situations

A cluster analysis using Ward's hierarchical classification of variables identified two clusters of variables describing reasons for food insecurity, levels of physical activity and selected health situations in the group of people covered by the study (Fig.

1). The first cluster was characterized by an „economic-social” reason for food insecurity of high importance and a „spatial-health” reason of low importance. People assigned to this cluster were those with high physical activity, a health situation better than that of their peers, a normal body weight, no metabolic diseases and no diseases leading to a loss of mobility. The second cluster was characterized by a „spatial-health” reason for food insecurity of high importance and an „economic-social” reason of low importance. This cluster was characteristic of people with low to moderate physical activity, in a health situation described as the same as or worse than that of their peers, who were overweight or obese and declared the presence of at least one metabolic disease or disease leading to a loss of mobility.

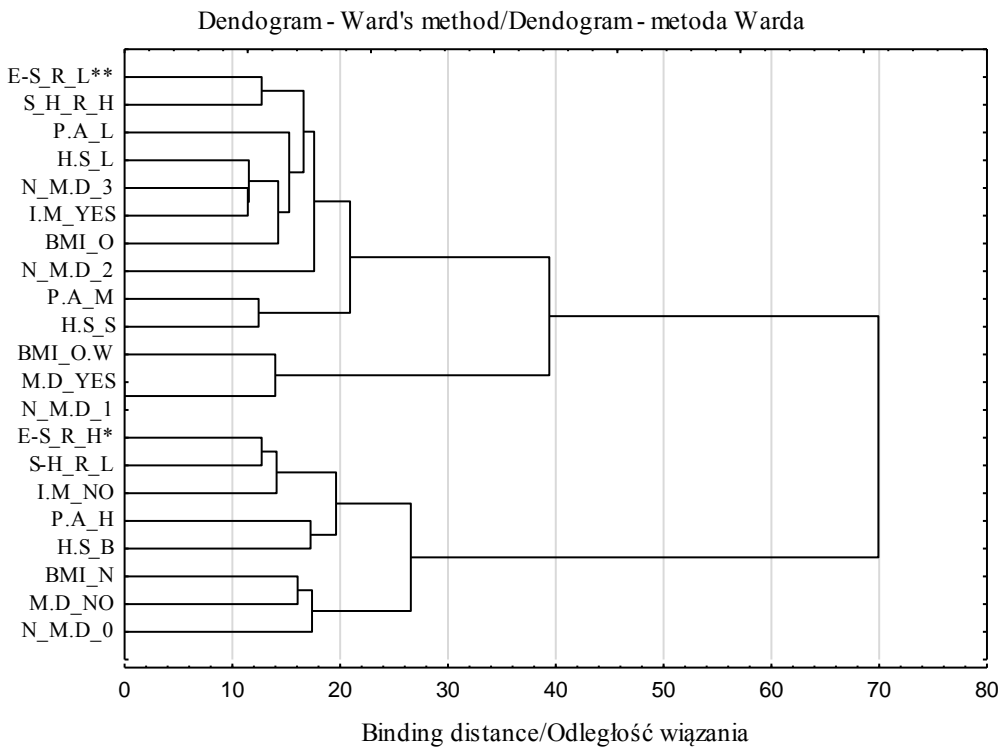


Fig. 1. Dendrogram showing a hierarchical classification of variables describing reasons for food insecurity, physical activity and selected health situations

Rys. 1. Dendrogram przedstawiający hierarchiczną klasyfikację zmiennych opisujących przyczyny braku bezpieczeństwa żywnościowego, aktywność fizyczną i wybrane sytuacje zdrowotne

Objaśnienia / Explanatory notes:

*relationship between E-S_R_H – „economic and social” reasons of high importance, S-H_R_L – „spatial and health” reasons of low importance, P.A_H – high of physical activity, H.S_B – health status better than that of their peers, BMI_N – BMI: normal, M.D_NO – no metabolic diseases, N_M.D_0 – number of metabolic diseases: zero, I.M_NO – no impaired mobility

*związek między E-S_R_H - przyczyną "ekonomiczno-społeczną" o wysokim znaczeniu, S-H_R_L - przyczyną "przestrzenno-zdrowotną" o niskim znaczeniu, P.A_H - wysoką aktywnością fizyczną, H.S_B - stanem zdrowia lepszym niż rówieśników, BMI_N - prawidłowym BMI, M.D_NO - brakiem chorób metabolicznych, N_M.D_0 - liczba chorób metabolicznych: zero, I.M_NO - brakiem zaburzeń mobilności.

**relationship between S-H_R_H - „spatial and health” reasons of high importance, E-S_R_L - economic and social” reasons of low importance, P.A_L - low of physical activity, P.A_M - medium of physical activity, H.S_L - health status lower than that of their peers, H.S_S - health status similar to that of their peers, BMI_O.W - BMI: overweight, BMI_O - BMI: obesity, M.D_YES - presence of metabolic diseases, N_M.D_1 - number of metabolic disease: one, N_M.D_2 - number of metabolic disease: two, N_M.D_3 - number of metabolic disease: three and more, I.M_YES - presence of impaired mobility.

**związek między S-H_R_H - przyczyną "przestrzenno-zdrowotną" o wysokim znaczeniu, E-S_R_L - przyczyną "ekonomiczno-społeczną" o niskim znaczeniu, P.A_L - niską aktywnością fizyczną, P.A_M - średnią aktywnością fizyczną, H.S_L - stanem zdrowia gorszym niż rówieśników, H.S_S - stanem zdrowia takim samym jak rówieśników, BMI_O.W - BMI świadczącym o nadwadze, BMI_O - BMI świadczącym o otyłości, M.D_YES - obecnością chorób metabolicznych, N_M.D_1 - liczbą chorób metabolicznych: jedną, N_M.D_2 - liczbą chorób metabolicznych: dwiema, N_M.D_3 - liczbą chorób metabolicznych: trzema i więcej, I.M_YES - obecnością zaburzeń mobilności.

Table 2 presents results concerning the numbers and percentages of people characterized by different meanings of reasons for food insecurity considering levels of physical activity and selected health situations. It was shown that significantly more people who were affected by food insecurity for an „economic-social” reason of high importance compared to the same reason of low importance had a high level of physical activity, a health situation better than that of their peers and a lower prevalence of obesity, metabolic diseases and diseases leading to a loss of mobility. Those whose food insecurity situation involved a „spatial-health” reason of high importance relative to the same reason of low importance showed a lower prevalence of high physical activity, a lower prevalence of a health situation better than that of their peers and a higher prevalence of obesity and metabolic diseases, especially when at least three were present at the same time, and diseases leading to a loss of mobility.

The results of a logistic regression analysis presenting the relationship between food insecurity due to „economic-social” and „spatial-health” of high importance and the level of physical activity and selected health situations of the subjects are presented in Table 3. It was shown that those for whom the „economic and social” reason for food insecurity was of high importance were more likely to be characterized by a medium (OR = 2.14, ref. low physical activity) or high level of physical activity (OR = 2.82, ref. low physical activity) and by a health status equal to (OR = 1.94, ref. lower than peers) or better than that of their peers (OR = 4.24, ref. lower than peers) and to deny the presence of diseases leading to a loss of mobility (OR = 2.12, ref. yes). People for whom the „spatial-health” reason for food insecurity was of high importance were more likely to be characterized by a low level of physical activity (OR = 3.22, ref. medium;

Table 2. Importance of „economic-social” and „spatial-health” reasons for food insecurity according to physical activity and selected health situations of the study sample

Tabela 2. Znaczenie "ekonomiczno-społecznych" i "przestrzenno-zdrowotnych" przyczyn braku bezpieczeństwa żywnościowego w zależności od aktywności fizycznej i wybranych sytuacji zdrowotnych badanej próby

Characteristics / Charakterystyka	Total sample Ogółem		Cause for food insecurity Przyczyna braku bezpieczeństwa żywnościowego							
			„economic-social” ^{1a} / „ekonomiczno- społeczna” ^{1a}				„spatial-health” ^{1b} / „przestrzenno- zdrowotna” ^{1b}			
			high* / wysokie*		low** / niskie		high / wysokie		low / niskie	
			N	%	N	%	N	%	N	%
Total sample / Ogółem	760	100.0	677	89.1	83	10.9	245	32.2	515	67.8
Physical activity / Aktywność fizyczna										
low / niska	194	25.5	160	23.6	34	41.0	104	42.4	90	17.5
medium / umiarkowana	466	61.3	424	62.6	42	50.6	123	50.2	343	66.6
high / wysoka ^{a,b}	100	13.2	93	13.8	7	8.4	18	7.3	82	15.9
Health status / Stan zdrowia										
lower than peers / gorszy niż rówieśników	129	17.0	105	15.5	24	28.9	80	32.7	49	9.5
the same as peers / taki sam jak rówieśników	494	65.0	442	65.3	52	62.7	144	58.8	350	68.0
better than peers / lepszy niż rówieśników ^{a,b}	137	18.0	130	19.2	7	8.4	21	8.5	116	22.5
BMI										
normal weight / prawidłowa masa ciała	284	37.4	251	37.1	33	39.8	79	32.2	205	39.8
overweight / nadwaga	324	42.6	295	43.6	29	34.9	93	40.0	231	44.9
obesity / otyłość ^b	152	20.0	131	19.3	21	25.3	73	27.8	79	15.3
Metabolic diseases / Choroby metaboliczne										
no / nie ^{a,b}	180	23.7	165	24.4	15	18.1	43	17.6	137	26.6
yes / tak ^{a,b}	580	76.3	512	75.6	68	81.9	202	82.4	378	73.4
Number of metabolic diseases / Liczba chorób Metabolicznych										
zero / zero ^b	180	23.7	165	24.4	15	18.1	43	17.6	137	26.6
one / jedna	287	37.8	259	38.3	28	33.7	74	30.2	213	41.3
two / dwie	197	25.9	168	24.8	29	34.9	79	32.2	118	22.9
three and more / trzy i więcej ^b	96	12.6	85	12.5	11	13.3	49	20.0	47	9.2
Impaired mobility / Utrata mobilności										
no / nie ^{a,b}	621	81.7	563	83.2	58	69.9	157	64.1	464	90.1
yes / tak ^{a,b}	139	18.3	114	16.8	25	30.1	88	35.9	51	9.9

Objaśnienia / Explanatory notes:

*high importance of the cause / wysokie znaczenie przyczyny, **low importance of the cause / niskie znaczenie przyczyny

^{a,b} significant differences between high and low importance of economic-social reason (^a) and spatial-health reason (^b) for individual categories of physical activity and selected health situations - chi-square test, $p < 0.05$ / istotne różnice pomiędzy wysokim i niskim znaczeniem przyczyn ekonomiczno-społecznych (a) i przestrzenno-zdrowotnych (b) dla poszczególnych kategorii aktywności fizycznej i wybranych sytuacji zdrowotnych - test chi-kwadrat, $p < 0,05$

OR = 5.26, ref. high), health status lower than (OR = 3.97, ref. the same as peers; OR = 9.00, ref. better than peers) or the same as that of their peers (OR = 2.27, ref. better than peers), obesity (OR = 2.39, ref. normal; OR = 2.29, ref. overweight), the presence of metabolic diseases (OR = 1.70, ref. no), including two metabolic diseases (OR = 1.60, ref. no; OR = 2.00, ref. one) or three or more (OR = 3.11, ref. one; OR = 2.19, ref. two), and the occurrence of diseases leading to a loss of mobility (OR = 5.09, ref. no).

Discussion

Based on the same materials and methods of study, an earlier author's paper [23] identified reasons for food insecurity. The present study evaluates the relationship of these reasons to physical activity and selected health situations. The present study showed that for people with lower physical activity levels and a worse health situation (health status the same as or lower than that of their peers, overweight or obesity, the presence of metabolic diseases or those leading to a loss of mobility), the „spatial-health“ reason of high importance for food insecurity was more important than the „economic-social“ reason of high importance. By contrast, people with higher physical activity and a more favorable health situation (health status the same as or better than that of their peers, normal body weight or lower prevalence of obesity, metabolic diseases or those leading to a loss of mobility) were more likely to report that the „economic-social“ reason for food insecurity of high importance was more important than the „spatial-health“ reason of high importance.

The relationship between food insecurity, its reasons and lifestyle and health characteristics is complex and has not yet been addressed in a Polish study. The social-ecological model assumes that food insecurity in the elderly is related to a number of factors [12] and the multidirectional interrelationships among these factors. For example, food insecurity in the elderly is not only related to a lack of finances but also correlated with their physical health and psychosocial relationships [12]. Older people characterized by food insecurity are more likely to experience disability due to overweight and obesity [9, 63], chronic diseases [33] and functional limitations [3, 9, 63]. In addition, inadequate intake of quality food due to food insecurity can lead to inadequate energy and nutrient intake, resulting in reduced muscle strength and function [3]. On the other hand, remaining at home and a lack of mobility may limit the ability of the

Table 3. Odds ratios cause of food insecurity of high importance according to physical activity and selected health situations in the study sample
Tabela 3. Iloraz szans przyczyn braku bezpieczeństwa żywnościowego o wysokim znaczeniu w zależności od aktywności fizycznej i wybranych sytuacji zdrowotnych w badanej próbie

Characteristics / Charakterystyka	Cause for food insecurity of high importance / Przyczyna braku bezpieczeństwa żywnościowego o wysokim zna- czeniu					
		“economic-social” ”ekonomiczno-społeczna” (ref. ^a low importance/niskie znaczenie)	p	OR	“spatial-health” ”przestrzennie-zdrowotna” (ref. low importance/niskie zna- czenie)	p
		OR ^b				
Physical activity Aktywność fizyczna	low / niska (ref. ^a medium / umiarkowana)	0.47 (0.29-0.76)	0.002	3.22 (2.27-4.57)	<0.001	
	low / niska (ref. high / wysoka)	0.35 (0.15-0.83)	0.017	5.26 (2.93-9.45)	<0.001	
	medium / umiarkowana (ref. low / niska)	2.14 (1.31-3.49)	0.002	0.31 (0.22-0.44)	<0.001	
	medium / umiarkowana (ref. high / wysoka)	0.76 (0.33-1.74)	0.517	1.63 (0.94-2.83)	0.080	
	high / wysoka (ref. low / niska)	2.82 (1.20-6.65)	0.017	0.19 (0.11-0.34)	<0.001	
Health status / Stan zdrowia	high/ wysoka (ref. medium / umiarkowana)	1.31 (0.57-3.03)	0.517	0.61 (0.35-1.06)	0.080	
	lower than peers / gorszy niż rówieśników (ref. the same as peers / taki sam jak rówieśników)	0.51 (0.30-0.81)	0.014	3.97 (2.64-5.95)	<0.001	
	lower than peers / gorszy niż rówieśników (ref. better than peers / lepszy niż rówieśników)	0.24 (0.10-0.57)	0.001	9.00 (5.01-16.24)	<0.001	
	the same as peers / taki sam jak rówieśników (ref. lower than peers / gorszy niż rówieśników)	1.94 (1.14-3.30)	0.013	0.25 (0.17-0.38)	<0.001	
	the same as peer s/ taki sam jak rówieśników (ref. better than peers / lepszy niż rówieśników)	0.46 (0.20-1.03)	0.060	2.27 (1.37-3.76)	0.001	

	gorszy niż rówieśników) better than peers / lepszy niż rówieśników (ref. the same as peers / taki sam jak rówieśników)	4.24 (1.75-10.28)	0.001	0.11 (0.06-0.20)	<0.001
BMI	normal weight / prawidłowa masa ciała (ref. overweight / nadwaga) normal weight / prawidłowa masa ciała (ref. obesity / otyłość) overweight / nadwaga (ref. normal weight / prawidłowa masa ciała) overweight / nadwaga (ref. obesity / otyłość) obesity / otyłość (ref. normalweight / prawidłowa masa ciała) obesity / otyłość (ref. overweight / nadwaga)	2.18 (0.97-4.93) 0.75 (0.44-1.27) 1.22 (0.68-2.20) 1.34 (0.79-2.27) 1.63 (0.90-2.97) 0.82 (0.46-1.48) 0.61 (0.34-1.12)	0.060 0.279 0.508 0.279 0.109 0.508 0.109	0.44 (0.27-0.73) 0.96 (0.67-1.37) 0.42 (0.28-0.63) 1.04 (0.73-1.50) 0.44 (0.29-0.65) 2.39 (1.59-3.62) 2.29 (1.54-3.42)	0.001 0.811 <0.001 0.812 <0.001 <0.001 <0.001
Metabolic diseases Choroby metaboliczne	no / nie (ref. yes/tak) yes / tak (ref. no/nie)	1.46 (0.81-2.63) 0.68 (0.38-1.23)	0.205 0.205	0.59 (0.40-0.86) 1.70 (1.16-2.50)	0.006 0.006
Number of metabolic diseases Liczba chorób metabolicznych	zero (ref. one / jedna) zero (ref. two / dwie) zero (ref. three and more / trzy i więcej) one / jedna (ref. zero) one / jedna (ref. two / dwie) two / jedna (ref. three and more / trzy i więcej) two / dwie (ref. zero) two / dwie (ref. one / jedna) two / dwie (ref. three and more / trzy i więcej) three and more / trzy i więcej (ref. zero) three and more / trzy i więcej (ref. one / jedna) three and more / trzy i więcej (ref. two / dwie)	1.19 (0.62-2.30) 1.46 (0.81-2.63) 1.47 (0.81-2.67) 0.84 (0.44-1.63) 1.22 (0.74-2.02) 0.96 (0.55-1.68) 0.61 (0.38-0.99) 0.59 (0.35-0.97) 0.65 (0.39-1.10) 0.75 (0.45-1.21) 0.78 (0.39-1.58) 1.02 (0.50-2.09)	0.605 0.205 0.207 0.605 0.432 0.892 0.048 0.038 0.106 0.208 0.496 0.948	0.90 (0.59-1.39) 0.59 (0.40-0.86) 0.68 (0.46-1.01) 1.11 (0.72-1.71) 0.73 (0.52-1.02) 0.69 (0.48-1.01) 1.60 (1.14-2.25) 2.00 (1.40-2.85) 1.35 (0.92-1.98) 1.30 (0.80-2.11) 3.11 (1.98-4.90) 2.19 (1.39-3.47)	0.646 0.006 0.053 0.646 0.066 0.050 0.006 <0.001 0.118 0.055 <0.001 <0.001
Impaired mobility Utrata mobilności	no / nie (ref. yes / tak) yes / tak (ref. no / nie)	2.12 (1.27-3.54) 0.47 (0.28-0.78)	0.004 0.004	0.20 (0.13-0.29) 5.09 (3.45-7.53)	<0.001 <0.001

Objaśnienia / Explanatory notes:

^a reference group/grupa referencyjna; ^b point estimate at 95% Wald confidence/szacowanie metodą Walda przy 95% poziomie ufności; *p* – significance level of the

Wald's test/poziom istotności testu Walda.

elderly to purchase food, thus increasing the risk of food insecurity [67]. In this situation, a long distance to food purchasing places from where people live can only exacerbate the problem. Moreover, the experience of social isolation can be a significant factor in food insecurity in the elderly [63]. For example, a subpopulation of the elderly living alone in household members experiencing a lack of social support may not be able to maintain sufficient food consumption, due to a decline in motivation to prepare and consume food [40].

Overall, the economic and social reasons for food insecurity among the elderly are more important than the spatial (geographic) and health reasons that have been studied and published thus far [43, 51, 66]. We can also learn about the importance of economic factors such as income or financial resources for ensuring household food security from other publications [27, 31]. The economic reasons are important because they also apply to developed countries [66]. Usually, the problem lies not in a country's national income, but in the finances of households or individuals. This is also the reason why the elderly are particularly vulnerable to food insecurity for economic reasons. Typically, financial resources available to the elderly in Poland are insufficient even to meet basic needs. In this situation, social relationships, social capital and social support become important [16, 58]. However, the results of the study in this regard turned out to be inconclusive, which may be the result of differences in the perception and management of financial resources, social assistance opportunities and willingness to use such assistance. It turns out that the elderly, especially those living in rural areas, who experienced food insecurity due to limited financial resources, wanted to use or did not express a desire to use social assistance [24, 69, 74]. In addition, this social group was more likely to use family support than social assistance, which is probably culturally determined in many countries [13, 24]. The relationship between economic and social factors seems reasonable, but further research is needed to understand mechanisms involved in the interplay of these factors [25]. In this survey, for almost 90 % of people, „economic-social“ reasons were of high importance relative to „spatial-health“ reasons. The latter reasons were important to 32 % of people. For people with normal lifestyles and good health, the distance to amenities, for example, the distance from the place of residence to the place where food is purchased, as well as problems with purchasing food for health reasons („spatial-health“ reasons) are less important [48, 67, 73]. For these people, „economic-social“ reasons may be more important, as partially demonstrated in this study.

An increase in the importance of „spatial-health“ reasons for food insecurity may accompany a loss of physical activity and health. Previous studies assessing food security among the elderly showed that its absence was associated with lower physical activity [18] and physical and mental health problems [45, 64], malnutrition [26, 34, 55], overweight, obesity [68] and chronic non-communicable (metabolic) diseases [19, 22,

34]. On the other hand, improving this safety was associated with improved quality of life and health indicators (greater vitality and activity, lower risk of depression and pain episodes) [18]. Some studies show that food insecurity was marginally related to mobility and self-assessed health status [18]. This study showed such a relationship, provided that food insecurity was caused by „spatial-health“ factors.

For the elderly, a greater distance to the nearest grocery store and a lack of access to public and private transportation increase the risk of food insecurity [12, 23, 59, 60]. This is due to the need to travel longer in terms of time and distance. A lack of transportation forces the elderly to make repeated visits to the grocery store for heavy groceries. This situation leads to demotivation in terms of shopping [12]. Some studies show that multimorbidity in the elderly [14] and a loss of mobility, e.g. due to disability [12], can become an insurmountable barrier to self-purchasing food at the point of sale and cause a serious loss of food security [12]. A similar conclusion can be drawn from our own study. In addition, a long distance between a place of residence and a place of food procurement in the households of the Polish elderly resulted in a shortage in the daily diet of such food products as fish and fish products, some fruits, beef and some vegetables, i.e. products that are important in conditioning a proper diet [23]. On the other hand, the residence of the elderly in areas with easy access to stores improved their dietary quality [50]. The indirect or direct relationship between „spatial-health“ reasons and diet quality can decisively affect the quality of life and health of the elderly.

Strengths and Limitations

Household food insecurity is a fundamental public health problem. Understanding the factors associated with food insecurity is the key to understanding the needs of the elderly so that targeted interventions can be developed to reduce the impact of food insecurity on the quality of life of this subpopulation [2]. Although this study succeeded in determining the relationships among reasons for food insecurity, physical activity levels and selected health-related situations among the elderly, the study is cross-sectional and has its limitations. First, it does not allow an assessment of the cause-and-effect relationship between the reasons for food insecurity and the determinants of physical activity and health. Second, this type of study does not consider changes over time, which some researchers believe are very dynamic [1] and have a very significant impact on changes in food security. The changes are particularly important for not only socio-economic but also health reasons for the elderly in Poland. The investigated relationship should be verified in a longitudinal study determining its interrelationships and interactions. Thirdly, the results of the survey cannot be applied to the entire population of older people in Poland due to the lack of representativeness of the surveyed group (only two regions of Poland and only socially active participants of senior citi-

zen's clubs were included, excluding lonely and socially isolated people). Fourth, both the HFSS and KomPAN questionnaires have not been tested (validated) in Poland among the elderly.

Conclusions

The results of the study confirmed the relationship between reasons for food insecurity, levels of physical activity and selected situations describing the health of the elderly. In addition, the principal component analysis allowed for the aggregation of reasons to two factors (reasons with interrelationships). The study confirmed that for the respondents, the „economic-social“ reason is more important than the „spatial-health“ reason for food insecurity. Nevertheless, once the characteristics associated with physical activity and situations describing health are considered, there is a change in the importance of these reasons. For people with higher levels of physical activity and better health, the „economic-social“ reason is more important, while for those with lower levels of physical activity and poorer health, the „spatial-health“ reason for food insecurity turns out to be crucial.

The results obtained can be applied to planning social and health policies for the elderly. When planning strategies to support the elderly, public health policy makers should consider not only the data and indicators that demonstrate food security, but also the reasons why this security is being lost and their relationship to the quality of life and health characteristics of this subpopulation.

References

- [1] Aday R.H., Wallace J.B., Jones S.C., Pogacsnik A.R., Leifker K.F., Kibe-Pea E.W.: Understanding the experiences of food insecurity in older adults households. *J. Gerontol. Soc. Work.*, 2023, 66 (2) 239-262.
- [2] Assoumou B.O.M.T., Coughenour C., Godbole A., McDonough I.: Senior food insecurity in the USA: a systematic literature review. *Publ. Health Nutr.*, 2015, 26, (1) 229-245.
- [3] Awuviry-Newton K., Amoah D., Tavener M., Afram A.A., Dintrans P.V., Byles J., Kowal P.: Food insecurity and functional disability among older adults in Ghana: the role of sex and physical activity. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2022, 23 (8) e1432.1-1432.7.
- [4] Ayo-Martin O., García-García J., Hernández-Fernández F., Gómez-Hontanilla M., Gómez-Fernández I., Andrés-Fernández C., Lamas C., Alfaro-Martínez J.J., Botella F., Segura T.: Cerebral hemodynamics in obesity: Relationship with sex, age, and adipokines in a cohort-based study. *Geroscience* 2021, 43, 1465-1479.
- [5] Bernstein M., Munoz N.: Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Food and Nutrition for Older Adults: Promoting Health and Wellness. *J. Acad. Nutr. Diet.* 2012, 112, 1255-1277.
- [6] Bień, B. Stan zdrowia i sprawność ludzi starszych. In.: *Polska starość*. Eds. B. Synak. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Poland, 2002, pp. 35-77.

- [7] Bishop N.J., Wang K.: Food insecurity, comorbidity, and mobility limitations among older U.S. adults: Findings from the Health and Retirement Study and Health Care and Nutrition Study. *Prev. Med.* 2018, 114, 180-187.
- [8] Błędowski P., Chudek J., Grodzicki T., Gruchała M., Mossakowska M., Więcek A., Zdrojewski T.: Wyzwania dla polityki zdrowotnej i społecznej. Geneza projektów badawczych PolSenior 1 i PolSenior2. In *Badania poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem. POLSENIOR 2*. Eds. T. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski T. Wydawnictwo Gdański Uniwersytet Medyczny. Poland, 2021, pp. 19-35.
- [9] Brewer D.P., Catlett C.S., Porter K.N., Lee J.S., Hausman D.B., Reddy S., Johnson M.A.: Physical limitations contribute to food insecurity and the food insecurity–obesity paradox in older adults at senior centers in Georgia. *J. Nutr. Health Aging*, 2010, 29, (2) 150-169.
- [10] Brown C.J., Flood K.L.: Mobility limitation in the older patient: A clinical review. *JAMA* 2013, 310, 1168-1177.
- [11] Chen S., Ling J., Cheng Y.: Physical activity and body mass index were interactively related to health-related quality of life among older adults. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2023, 104, 104833.
- [12] Cheung E.S.L.: Food insecurity among older adults in New York City: Does location matter? *J. Hunger Environ. Nutr.*, 2022.
- [13] Chou R.J.-A.: Willingness to live in eldercare institutions among older adults in urban and rural China: A nationwide study. *Ageing Soc.* 2010, 30, 583-608.
- [14] Chrisinger B.W., King A.C., Hua J. et al.: How well do seniors estimate distance to food? The accuracy of older adults' reported proximity to local grocery stores. *Geriatrics*, 2019, 4 (1), 11.
- [15] Cunningham C., O'Sullivan R., Caserotti P., Tully M.A.: Consequences of physical inactivity in older adults: A systematic review of reviews and meta-analyses. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 2020, 30, 816-827.
- [16] Davis B.L., Grutzmacher S.K., Munger A.L.: Utilization of social support among food insecure individuals: A qualitative examination of network strategies and appraisals. *J. Hunger Environ. Nutr.*, 2016, 11, 162-179.
- [17] Demnitz N., Zsoldos E., Mahmood A., Mackay C.E., Kivimäki M., Singh-Manoux A., Dawes H., Johansen-Berg H., Ebmeier K.P., Sexton C.E.: Associations between Mobility, Cognition, and Brain Structure in Healthy Older Adults. *Front. Aging Neurosci.* 2017, 9, 155.
- [18] Diamantis D.V., Katsas K., Kastorini Ch.M., Mugford L., Dalma N., Ramizi M., Papapanagiotou O., Veloudaki A., Linos A., Kouvari M.: Older people in emergencies; addressing food insecurity, health status and quality of life: Evaluating the "365+ days of care" Program. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2023, 20 (7), 5235.
- [19] Dominick S.R., Olynk Widmar N.J., Ruple A., Grennell Weir J.Z., Acharya L.: The intersection of food insecure populations in the Midwest U.S. and rates of chronic health conditions. *Agric. Food Secur.*, 2018, 7, 43.
- [20] Fávoro-Moreira N.C., Krausch-Hofmann S., Matthys C., Vereecken C., Vanhauwaert E., Declercq A., Bekkering G.E., Duyck J.: Risk Factors for Malnutrition in Older Adults: A Systematic Review of the Literature Based on Longitudinal Data. *Adv. Nutr. Int. Rev. J.* 2016, 7, 507-522.
- [21] Fernandes S.G., Rodrigues A.M., Nunes C., Santos O., Gregório M.J., de Sousa R.D., et al.: Food Insecurity in older adults: Results from the Epidemiology of Chronic Diseases Cohort Study 3. *Frontiers Med.*, 2018, 5, 203.
- [22] Friel S., Ford L.: Systems, food security and human health. *Food Secur.*, 2015, 7 (2), 437-451.
- [23] Gajda R., Jeżewska-Zychowicz M.: Elderly perception of distance to the grocery store as a reason for feeling food insecurity - Can food policy limit this? *Nutrients*, 2020, 12, 3191.
- [24] Gajda R., Jeżewska-Zychowicz M.: The importance of social financial support in reducing food insecurity among elderly people. *Food Secur.* 2021, 13, 717-727.

- [25] Gajda R., Jeżewska-Zychowicz M., Styczyńska M., Jarossová M.A.: Food insecurity in the households of Polish elderly: diversity in the perception of its causes by demographic and socioeconomic characteristics. *Foods*, 2022, 11, 3222.
- [26] Ganhão-Arranhado S., Paúl C., Ramalho P., Pereira P.: Food insecurity, weight and nutritional status among older adults attending senior centres in Lisbon. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 2018, 78, 81-88.
- [27] Gregório M.J., Rodrigues A.M., Graça P., de Sousa R.D., Dias S.S., Branco J.C., Ganhão H.: Food insecurity is associated with low adherence to the Mediterranean diet and adverse health conditions in Portuguese adults. *Front. Public Health* 2018, 6, 38.
- [28] GUS. Stan zdrowia ludności Polski w 2019 r. Available online [10.05.2023]: <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/zdrowie/zdrowie/stan-zdrowia-ludnosci-polski-w-2019-r-26,1.html>
- [29] GUS. Wstępne Szacunki Produktu Krajowego Brutto w Przekroju Regionów 2019. Available online [10.05.2014]: file:///C:/Users/User/Downloads/wstepne_szacunki_pkb_w_przekroju_regionow_w_2019_r_2.pdf
- [30] GUS. Ludność rezydująca – Informacja o wynikach Narodowego Spisu Powszechnego Ludności I Mieszkań 2021. Available online [10.05.2023]: file:///C:/Users/ZCziD/Downloads/ludnosc_rezydujaca_informacja_o_wynikach_narodowego_spisu_powszechnego_ludnosci_i_mieszkan_2021_21.12.2022.pdf
- [31] Haro-Mota R., Marcelleño-Flores S., Bojórquez-Serrano J.I., Nájera-González O.: La inseguridad alimentaria en El estado de Nayarit, México, y su asociación con factores socioeconómicos. *Salud Pública México*, 2016, 58, 421-427.
- [32] HFSS (U.S. Household Food Security Survey Module). Available online [15.10.2022]: <https://www.ers.usda.gov/topics/food-nutrition-assistance/food-security-in-the-u-s/survey-tools/#household>
- [33] Jih J., Stijacic-Cenzer I., Seligman H.K., Boscardin W.J., Nguyen T.T., Ritchie C.S.: Chronic disease burden predicts food insecurity among older adults. *Public Health Nutr.* 2018, 21 (9), 1737-1742.
- [34] Keveser T.S., Ramazan Mert A., Sedat A., Nursel S.: Relationship between food insecurity and geriatric syndromes in older adults: A multicenter study in Turkey: A multicenter study in Turkey. *Exp. Gerontol.*, 2023, 172, 112054.
- [35] Krzymińska-Siemaszkó R., Chudek J., Suwalska A., Lewandowicz M., Mossakowska M., Kroll-Balcerzak R., Wizner B., Tobis S., Mehr K., Wieczorowska-Tobis K.: Health status correlates of malnutrition in the Polish elderly population-Results of the Polsenior Study.. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016, 20, 4565-4573.
- [36] Kujala U.M., Hautasaari P., Vähä-Ypyä H., Waller K., Lindgren N., Iso-Markku P., Heikkilä K., Rinne J., Kaprio J., Sievänen H.: Chronic diseases and objectively monitored physical activity profile among aged individuals - A cross-sectional twin cohort study. *Ann. Med.* 2019, 51, 78-87.
- [37] Kuzuya M.: Nutritional status related to poor health outcomes in older people: Which is better, obese or lean? *Geriatr. Gerontol. Int.* 2021, 21, 5-13.
- [38] Kwestionariusz do Badania Poglądów i Zwyczajów Żywieniowych oraz Procedura Opracowania Danych (KomPAN®): [Dietary Habits and Nutrition Beliefs Questionnaire and the Manual for Developing of Nutritional Data (KomPAN)]; Committee of Human Nutrition Science of the Polish Academy of Science. Warsaw, Poland, 2014. Available online [25.05.2017]: <http://www.knoz.pan.pl/>
- [39] Lau Y.W., Vaingankar J.A., Abdin E., Shafie S., Jeyagurunathan A., Zhang Y., Magadi H., Ng L.L., Chong S.A., Subramaniam M.: Social support network typologies and their association with dementia and depression among older adults in Singapore: A cross-sectional analysis. *BMJ Open* 2019, 9, e025303.

- [40] Lee J.S., Frongillo E.A. Jr.: Factors associated with food insecurity among U.S. elderly persons: importance of functional impairments. *J. Gerontol. B. Psychol. Sci. Soc. Sci.*, 2001, 56 (2), S94-99.
- [41] Lee C.-T., Yeh C.-J., Lee M.-C., Lin H.-S., Chen V.C.-H., Hsieh M.-H., Yen C.-H., Lai T.-J.: Social support and mobility limitation as modifiable predictors of improvement in depressive symptoms in the elderly: Results of a national longitudinal study. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2012, 55, 530-538.
- [42] Leonard T., Hughes A.E., Donegan C., Santillan A., Pruitt S.L.: Overlapping geographic clusters of food security and health: Where do social determinants and health outcomes converge in the U.S? *SSM - Population Health*, 2018, 5, 160-170.
- [43] Leroux J., Morrison K., Rosenberg M.: Prevalence and Predictors of Food Insecurity among Older People in Canada. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018, 15, 2511.
- [44] Leszko M., Zajęc-Lamparska L., Trempala J.: Aging in Poland. *Gerontologist* 2015, 55, 707-715.
- [45] Leung C.W., Epel E.S., Willett W.C., Rimm E.B., Laraia B.A.: Household food insecurity is positively associated with depression among low-income supplemental nutrition assistance program participants and income-eligible nonparticipants. *J. Nutr.*, 2015, 145 (3), 622-627.
- [46] Maia I., Oliveira A., Santos A.C.: Food insecurity is associated with an unhealthy lifestyle score in middle- and older-aged adults: findings from the EPIPorto cohort. *Food Secur.*, 2023, 15(3):661-671.
- [47] Majowicz S.E., Meyer S.B., Kirkpatrick S.I., Graham J.L., Shaikh A., Elliott S.J., Minaker L.M., Scott S., Laird B.: Food, health and complexity: towards a conceptual understanding to guide collaborative public health action. *BMC Public Health*, 2016, 16, 487.
- [48] Menec V.H., Brown C.L., Newall N.E.G., Nowicki S.: How important is having amenities within walking distance to middle-aged and older adults, and does the perceived importance relate to walking? *J. Aging Health*, 2016, 28 (3), 546-567.
- [49] Mitchell E., Walker R.: Global ageing: Successes, challenges and opportunities. *Br. J. Hosp. Med.* 2020, 81, 1-9.
- [50] Morland K., Wing S., Roux A.: The contextual effect of the local food environment on residents' diets: The atherosclerosis risk in communities study. *Am. J. Public Health*, 2002, 92, 1761-1767.
- [51] Mundo-Rosas V., Méndez-Gómez Humarán I., Shamah-Lexy T.: Caracterización de los hogares mexicanos en inseguridad alimentaria. *Salud Pública México*, 2014, 56, 12-20.
- [52] O'Keeffe M., Kelly M., O'Herlihy E., O'Toole P.W., Kearney P.M., Timmons S., O'Shea E., Stanton C., Hickson M., Rolland Y., et al.: Potentially modifiable determinants of malnutrition in older adults: A systematic review. *Clin. Nutr.* 2019, 38, 2477-2498.
- [53] Öztürk M.E., Poinhos R., Afonso C., Ayhan N.Y., de Almeida M.D.V., Oliveira B.M.P.M.: Nutritional status among Portuguese and Turkish older adults living in the community: Relationship with sociodemographic, health and antropometric characteristics. *Nutrients* 2023, 15, 6, 1333.
- [54] Palliyaguru D.L., Rudderow A.L., Sossong A.M., Lewis K.N., Younts C., Pearson K.J., Bernier M., de Cabo R.: Perinatal diet influences health and survival in a mouse model of leukemia. *Geroscience* 2020, 42, 1147-1155.
- [55] Pereira M.H.Q., Pereira M.L.A.S., Teles B.K.A., Pereira D.B.S., Campos G.C., Molina M.C.B.: Food insecurity and malnutrition in older adults from the Family Health Strategy in the Northeast of Brazil. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 2022, 72 (4), 274-284.
- [56] Rana K.S., Griffiths H.R., Navas P., Brown J.E.: The Interaction between Metabolic Disease and Ageing. *Glob. J. Obes. Diabetes, Metab. Syndr.* 2014, 1, 007-011.
- [57] Rosso A.L., Taylor J.A., Tabb L.P., Michael Y.L.: Mobility, Disability, and Social Engagement in Older Adults. *J. Aging Health*. 2013, 25, 617-637.
- [58] Sharifi N., Dolatian M., Mahmoodi Z., Abadi F.M.N., Mehrabi Y.: The relationship between social support and food insecurity in pregnant women: A cross-sectional study. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2017, 11, 1-6.


- [59] Shieh J.A., Leddy A.M., Whittle H.J., et al.: Perceived neighborhood-level drivers of food insecurity among aging women in the United States: a qualitative study. *J. Acad. Nutr. Diet.* 2021, 121 (5), 844-853.
- [60] Shim J.E., Kim S.-J., Kim K., Hwang J.-Y.: Spatial disparity in food environment and household economic resources related to food insecurity in rural Korean households with older adults. *Nutrients.* 2018, 10 (10), 1514.
- [61] Stanisław, A. *Przystępny kurs statystyki. Tom 1. Statystyki podstawowe.* Wydawnictwo SttSoft, Kraków, Poland, 2006.
- [62] Stanisław, A. *Przystępny kurs statystyki. Tom 3. Analizy wielowymiarowe.* Wydawnictwo StatSoft, Kraków, Poland, 2007.
- [63] Steiner J.F., Stenmark S.H., Sterrett A.T., Paolino A.R., Stiefel M., Gozansky W.S., Zang Ch.: Food insecurity in older adults in an integrated health care system. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2018, 66 (5), 1017-1024.
- [64] Stuff J.E., Casey P.H., Szeto K.L., Gossett J.M., Robbins J.M., Simpson P.M., et al.: Household food insecurity is associated with adult health status. *J. Nutr.*, 2004, 134 (9), 2330-2335.
- [65] Szybalska A., Hajduk A., Kujawska-Danecka H., Mossakowska M.: Samooceńca stanu zdrowia. In *Badania poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem. POLSENIOR 2.* Eds. T. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski. Wydawnictwo Gdański Uniwersytet Medyczny. Poland, 2021, pp. 761-771.
- [66] Tarasuk V., Fafard St-Germain A.A., Mitchell A.: Geographic and socio-demographic predictors of household food insecurity in Canada, 2011-2012. *BMC Public Health*, 2019, 19, 12-24.
- [67] Tucher E.L., Keeney T., Cohen A.J., Thomas K.S.: Conceptualizing food insecurity among older adults: development of a summary indicator in the National Health and Aging Trends Study. *J. Gerontol. B. Psychol. Sci. Soc. Sci.* 2021, 76 (10), 2063-2072.
- [68] Wang K., Bishop N.J.: Social support and monetary resources as protective factors against food insecurity among older Americans: Findings from a health and retirement study. *Food Secur.* 2019, 11, 929-939.
- [69] Wedgeworth M., Larocca M.A., Chaplin W.F., Scogin F.: The role of interpersonal sensitivity, social support, and quality of life in rural older adults. *Geriatr. Nurs.*, 2016, 38, 22-26.
- [70] Wiśniowska-Szurlej A., Ćwirlej-Sozańska A., Wilmowska-Pietruszyńska A., Sozański B.: Determinants of Physical Activity in Older Adults in South-Eastern Poland. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 16922.
- [71] World Health Organization. Body mass index – BMI. Available online [5.04.2019]: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/ahealthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>
- [72] World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *J. Am. Med. Assoc.* 2013, 310 (20), 2191-2194. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
- [73] Wu Y.-T., Kingston A., Houliden V., Franklin R.: The longitudinal associations between proximity to local grocery shops and functional ability in the very old living with and without multimorbidity: Results from the Newcastle 85+ study. *Arch.Gerontol. Geriatr.*, 2022, 101, 104703.
- [74] Xing Y., Pei R., Qu J., Wang J., Zhou H., Wang Z., Yan W., Sun X., Sun T., Li L.: Urban-rural differences in factors associated with willingness to receive eldercare among the elderly: A cross-sectional survey in China. *BMJ Open*, 2018, 8, e020225.

ZWIĄZEK MIĘDZY BRAKIEM BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCIOWEGO O ZMIENNEJ PRZYCZYNIE, AKTYWNOŚCIĄ FIZYCZNĄ I WYBRANYMI SYTUACJAMI ZDROWOTNYMI WŚRÓD OSÓB STARSZYCH W POLSCE: BADANIE PRZEKROJOWE

Streszczenie

Wprowadzenie. Wraz z wiekiem spada poziom aktywności fizycznej, wzrasta częstość występowania problemów zdrowotnych i niepełnosprawności. Ponadto osoby starsze doświadczają braku bezpieczeństwa żywnościowego. Celem badania było ustalenie związku między brakiem bezpieczeństwa żywnościowego o zmiennej przyczynie, poziomem aktywności fizycznej, występowaniem chorób metabolicznych i tych prowadzących do utraty mobilności. Badanie przeprowadzono wśród 760 osób w wieku 65 lat i starszych na przełomie 2018 i 2019 roku w dwóch regionach Polski. Pytania dotyczące bezpieczeństwa żywnościowego zostały zaadaptowane z kwestionariusza HFSS, a te dotyczące cech demograficznych, aktywności fizycznej i wybranych sytuacji zdrowotnych z kwestionariusza KomPAN. Przyczyny braku bezpieczeństwa żywnościowego wyłoniono na podstawie analizy głównych składowych (PCA). Do oceny zależności między zmiennymi wykorzystano hierarchiczną klasyfikację zmiennych metodą Warda oraz analizę regresji logistycznej. Do weryfikacji różnic między zmiennymi wykorzystano test chi-kwadrat. Wartość $p < 0,05$ uznano za istotną.

Wyniki i wnioski. Na podstawie analizy PCA wyłoniono dwa czynniki opisujące przyczyny braku bezpieczeństwa żywnościowego. Pierwszy czynnik został określony jako przyczyna "ekonomiczno-społeczna", a drugi jako przyczyna "przestrzenno-zdrowotna". Pierwszy czynnik był związany z umiarkowaną lub wysoką aktywnością fizyczną, taką samą lub lepszą sytuacją zdrowotną niż rówieśników, prawidłową masą ciała lub mniejszą częstością występowania otyłości oraz brakiem chorób metabolicznych i chorób prowadzących do utraty mobilności. Drugi czynnik był związany z niską lub umiarkowaną aktywnością fizyczną, taką samą lub gorszą sytuacją zdrowotną niż rówieśników, nadwagą lub otyłością, co najmniej jedną chorobą metaboliczną i chorobami prowadzącymi do utraty mobilności. Badanie potwierdziło, że "ekonomiczno-społeczna" przyczyna braku bezpieczeństwa żywnościowego jest bardziej widoczna u osób z wyższym poziomem aktywności fizycznej i lepszym stanem zdrowia, podczas gdy przyczyna "przestrzenno-zdrowotna" jest bardziej widoczna u osób z niższym poziomem aktywności fizycznej i gorszym stanem zdrowia.

Słowa kluczowe: brak bezpieczeństwa żywnościowego, osoby starsze, aktywność fizyczna, BMI, choroby metaboliczne, utrata mobilności 

LUCYNA PACHOCKA, MAŁGORZATA MĘKUS

ANALIZA PORÓWNAWCZA SPOSOBU ŻYWIENIA Kobiet W RÓŻNYM WIEKU Z UWZGLĘDNIENIEM SPOŻYCIA PRODUKTÓW MLECZNYCH BĘDĄCYCH ŹRÓDŁEM PROBIOTYKÓW – BADANIA PILOTAŻOWE

Streszczenie

Wprowadzenie: Produkty mleczne w tym napoje fermentowane stanowią cenne źródło składników odżywczych i probiotyków. Celem pracy była ocena sposobu żywienia kobiet oraz ocena wielkości spożycia produktów mlecznych z dietą z wyszczególnieniem napojów fermentowanych, stanowiących źródło probiotyków. W badaniu wzięło udział 60 kobiet w wieku od 28 do 82 lat, z podziałem na osoby przed 60. rokiem życia i od 60. roku życia. Ocena sposobu żywienia przeprowadzono metodą bieżącego notowania z 3 dni oraz dokonano pomiarów antropometrycznych.

Wyniki i wnioski. Wykazano istotnie statystycznie większe spożycie energii, nasyconych kwasów tłuszczowych, sacharozy, węglowodanów przyswajalnych u kobiet w wieku młodszym, u których stwierdzono istotnie statystycznie większe wartości masy ciała i BMI. W obu grupach udział energii z mono- i disacharydów był za wysoki. Diety były niedoborowe w wapń, jod, foliany, witaminę D i w witaminę B1 oraz potas u kobiet starszych. Łączne spożycie produktów mlecznych w przeliczeniu na mleko, w tym serów twarogowych było większe u kobiet od 60. roku życia. U kobiet młodszych było większe spożycie serów w pojemniczkach i podpuszczkowych twardych. Dzielne spożycie mlecznych napojów fermentowanych było bardzo małe. Wykazano w obu grupach kobiet błędy żywieniowe. Stwierdzono znaczne niedobory wapnia, jodu, folianów, witaminy D oraz potasu i witaminy B1 u kobiet starszych. Spożycie cukrów, sodu, soli było wysokie i niezgodne z zaleceniami. Ilość spożytych produktów mlecznych była niewystarczająca, by pokryć zapotrzebowanie na wapń i witaminę D, a spożycie napojów fermentowanych było zbyt małe, by kobiety mogły odnieść korzystne dla zdrowia działania profilaktyczne i terapeutyczne. Wskazane są dalsze badania odnośnie do preferencji spożycia produktów będących źródłem probiotyków i ich wpływu na zdrowie człowieka.

Słowa kluczowe: składniki odżywcze, żywienie, probiotyki, produkty mleczne

Wprowadzenie

Właściwe, racjonalne żywienie oraz odpowiedni dobór produktów w diecie mają kluczowe znaczenie dla utrzymania zdrowia. Spośród asortymentu artykułów spożywczych

czych bogatych w substancje odżywcze na szczególną uwagę zasługują produkty mleczne, w tym napoje fermentowane, stanowiące także doskonałe źródło probiotyków.

Probiotyki stanowią integralną część jelitowej mikroflory ludzkiej oraz wspomagają utrzymywanie prawidłowej homeostazy mikrobiomu oraz normalnej regulacji mikrobiologicznej aktywności metabolicznej. Według definicji *Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization FAO/WHO* z 2002 r. uaktualnionej przez *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)* w 2014 r. probiotyki są to żywe mikroorganizmy, które, podawane w odpowiednich ilościach, przynoszą korzyści zdrowotne gospodarzowi [10]. Mleko i produkty mleczne są jednymi z najpowszechniej spożywanych produktów, jednakże w ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby osób, które je wykluczają.

Celem pracy była ocena sposobu żywienia kobiet przed 60. rokiem życia i od 60. roku życia wzwyż oraz ocena wielkości spożycia produktów mlecznych z dietą z wyszczególnieniem napojów fermentowanych stanowiących źródło probiotyków.

Material i metody badań

W badaniu wzięło udział 60 kobiet w wieku 28 ÷ 82 lata, w tym 32 kobiety do 60. roku życia i 28 kobiet od 60. roku życia. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego PZH (Opinia nr 10/2021 z dnia 30.06.2021).

Dobór kobiet odbył się spośród pacjentek, które zgłosiły się do Poradni Chorób Metabolicznych Centrum Medycznego NIZP PZH-PIB i pisemnie wyraziły zgodę na udział w badaniach. Jako warunek włączenia do badania było występowanie co najmniej jednego czynnika ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Kryteria wyłączenia z badania obejmowały kobiety z rozrusznikiem serca, padaczką, kobiety w ciąży i karmiące piersią. Ocenę dotychczasowego sposobu żywienia przeprowadzono metodą bieżącego notowania z 3 dni w tym z 1 dnia weekendowego (łącznie obliczono 180 wywiadów 24-godzinnych z wykorzystaniem programu komputerowego DIETA 6.0). Wartość odżywczą ocenianych jadłospisów odniesiono do Norm żywienia dla populacji Polski z 2020 roku [11].

Zgodnie z wytycznymi WHO dokonano podstawowych pomiarów antropometrycznych (masa ciała, wzrost) na podstawie, których wyliczono wskaźnik masy ciała BMI (Body Mass Index).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 6.0. Zmienne nominalne przedstawiono jako liczebność n (% grupy). Zmienne ilościowe zostały opisane za pomocą średniej arytmetycznej \pm odchylenie standardowe (SD) dla danych o rozkładzie zbliżonym do normalnego. Dane przedstawiono jako średnia \pm SD lub jako mediana w przypadku rozkładu odbiegającego od normalnego. Porównania

grup dokonano za pomocą testu t-Studenta przy przyjętym poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W obecnych czasach wiele chorób spowodowanych jest nieprawidłowymi nawykami zdrowotnymi. Młodzi ludzie są najbardziej narażeni na występowanie konsekwencji niewłaściwego sposobu odżywiania się i nieprawidłowych zachowań w życiu codziennym w tym zachowań zdrowotnych [2, 8, 17]. W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę badanych kobiet. Stwierdzono, że wartości masy ciała i wskaźnika BMI (Body Mass Index) były bardzo różne, przy czym wskaźnik BMI u kobiet poniżej 60. roku życia był w zakresie od 21,2 kg/m² do 56 kg/m², a u kobiet w wieku starszym: od 20 kg/m² do 47,4 kg/m². Kobiety w młodszym wieku miały istotnie statystycznie większe wartości średniej masy ciała (93,9 kg vs. 84,5 kg; $p = 0,002$) i wskaźnika masy ciała BMI (35,2 kg/m² vs. 32,7 kg/m²; $p = 0,036$).

Tabela 1. Charakterystyka badanych kobiet

Table 1. Characteristics of the women surveyed

Dane /Data	Kobiety < 60 lat Women < 60 years (n=32)				Kobiety ≥ 60 lat Women ≥ 60 years (n=28)				p
	x	min.	max.	SD	x	min.	max.	SD	
wiek (lat) / age (years)	45,7	28,2	59,5	9,0	69,5	61,6	82,2	6,0	0,000
masa ciała (kg) / body weight (kg)	93,9	55,1	146,9	22,8	84,5	52,1	113,9	16,9	0,002
wzrost (cm) / height (cm)	163,6	146,0	176,0	7,1	160,7	151,5	169,0	4,6	0,002
BMI (kg/m ²)	35,2	21,2	56,0	8,4	32,7	20	47,4	6,7	0,036

Objaśnienia / Explanatory notes:

x – średnia / mean value; min. – minimum; max. – maksimum / maximum; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; p – poziom prawdopodobieństwa / probability level

U kobiet przed 60. rokiem życia wykazano istotnie statystycznie większe spożycie energii (1714,7 kcal/dobę vs. 1530,2 kcal/dobę), nasyconych kwasów tłuszczowych (22 g/dobę vs. 18,4g/dobę), sacharozy (35,1 g/dobę vs. 25,2 g/dobę), węglowodanów przyswajalnych (201,6 g/dobę vs. 179,4 g/dobę) oraz witaminy B1 (1,21 mg/dobę vs. 1,0 mg/dobę) niż u kobiet od 60. roku życia (Tabela 2). Stwierdzono także, że w obu grupach były kobiety ze zbyt niskim spożyciem energii z diety, które było poniżej 3000 kJ/dobę (poniżej 700 kcal/dobę), co może się wiązać z dużym ryzykiem niedoborów wielu składników odżywczych a tym samym z wystąpieniem zaburzeń metabolicznych. W naszym badaniu stwierdzono znaczne niedobory wapnia, którego dzienne

spożycie z dietą stanowiło 59,9 % normy żywienia dla ludności Polski na poziomie zalecanego spożycia (RDA) u kobiet poniżej 60 lat i 54,5 % u kobiet starszych [11]. Także niedoborowe było spożycie w obu grupach kobiet jodu (85,3 % przez kobiety < 60 lat, 80 % przez kobiety ≥ 60 lat), folianów (odpowiednio: 75,2 % vs. 74,5 %), witaminy D (odpowiednio: 23,1 % vs. 24,7 % normy na poziomie wystarczającego spożycia AI) oraz potasu i witaminy B1 u kobiet starszych w odniesieniu do normy na poziomie RDA [11], który z uwagi na pogorszenie wchłaniania się tiaminy z wiekiem i ograniczonym jej zapasem w organizmie może prowadzić m.in. do zaburzenia pamięci i do depresji. Natomiast spożycie cukru, sodu i soli było większe od zalecanego [9, 11].

Tabela 2. Wartość energetyczna diety i zawartość składników odżywczych z diety zwyczajowej kobiet przed 60. rokiem życia i od 60. roku życia

Table 2. The energy value of the diet and the content of nutrients from the usual diet of the women before the age of 60 and women aged 60 or older

Energia i składniki odżywcze/osobę/dzień Energy and nutrients/person/day	Kobiety <60 lat / Women < 60 96 wywiadów / interviews				Kobiety ≥60 lat / Women ≥ 60 years 84 wywiadów / interviews				p
	X	min	max	SD	X	min	max	SD	
Energia / Energy [kJ]	7200	2628,7	17879,9	2515,8	6425	2930,4	12779,9	1863,1	0,021
Białko ogółem / Total protein [g]	77,5	26,9	144,9	28,5	70,4	23,7	116,6	23,4	0,073
Białko zwierzęce Animal protein [g]	52,1				46,8				
% Białka ogółem % Total Protein	67,2	9,0	125,6	26,1	66,5	3,9	94,2	22,3	0,143
Białko roślinne / Vegetable protein [g]	24,5	8,5	57,2	9,4	23,2	12,4	44,9	7,3	0,310
Tłuszcz / Fat [g]	61,1	9,2	148,7	28,5	54	10,2	159,2	23,8	0,072
Węglowodany Carbohydrates [g]	222,8	70,0	857,2	101,9	202,1	84,6	389,2	68,4	0,117
Na [mg] % AI	3131,4 208,8	884,2	6933,7	1411,4	2851,2 190,1	854,1	5368,4	1102,1	0,144
K [mg] % AI	3615,2 103,3	888,8	21053,0	2244,9	3432,8 98,1	1150,1	7610,4	1369,2	0,519
Ca [mg] % RDA	719,3 59,9	92,6	2313,0	400,8	653,8 54,5	202,1	1932,6	267,8	0,206
P [mg] % RDA	1328,0 189,7	432,2	5369,7	640,1	1208,4 172,6	442,9	2467,1	410,1	0,144
Mg [mg] % RDA	337,5 105,5	109,4	776,0	124,1	340,2 106,3	158,4	600,9	97,4	0,871
Fe [mg] % RDA	12,26 (68-122,6)	3,751	71,32	8,1	11,4 114	4,9	34	4,9	0,418
Zn [mg] % RDA	9,6 120	3,1	19,8	3,6	9,3 116,3	3,5	16,4	2,7	0,567

Wit. A [ug] % RDA	1387,1 198,2	236,6	34824,8	3514,1	1074,2 153,5	180,1	18464,3	1974,6	0,471
Wit. E [mg] % AI	10,4 130	1,8	29,7	6,0	10,1 126,3	2,7	26	4,6	0,737
Wit. B1 [mg] % RDA	1,2 109,1	0,33	4,75	0,7	1 90,9	0,4	1,8	0,3	0,011
Wit. B2 [mg] % RDA	1,7 154,5	0,37	9,54	1,05	1,5 136,4	0,6	7	0,8	0,261
Wit. C [mg] % RDA	138,0 184	6,4	625,4	123,1	115,3 153,7	13	292,8	64	0,129
SFA [g] % Energii / Energy	21,98 11,5%	2,87	58,54	11,79	18,4 10,8	2,1	49,9	9	0,025
MUFA [g] % Energii / Energy	24,39 12,8	2,311	70,11	12,948	21,6 12,7	3,6	75,3	11	0,118
PUFA [g] % Energii / Energy	9,90 5,2	1,79	30,3	5,2	9,8 5,8	1,9	26	5,2	0,933
Cholesterol [mg]	280,0	52,8	1228,8	204,3	247,5	21,1	889,1	178,9	0,261
Sacharoza / Saccharose [g]	35,1 8,2	1,1	132,8	26,4	27,2 7,1	3	105,4	16,9	0,019
Laktoza / Lactose [g]	9,55	0,00	40,1	9,3	8,1	0,3	36,5	6,7	0,221
Blonnik / Fiber [g]	21,2	4,9	78,2	10,7	22,8	10,5	47,3	7,7	0,274
Foliany / Foliates [ug] % Normy	300,9 75,2	117,0	718,3	126,9	297,8 74,5	112,7	1234,4	143,5	0,877
Wit. / Vit. B12 [ug] % Normy	4,1 170,8	0,19	67,31	7,07	4 166,7	0,3	70	7,7	0,919
Wit. / Vit. D [ug] % Normy	3,46 23,1	0,12	40,19	5,29	3,7 24,7	0	38,4	5,7	0,801
I [ug] % Normy	128,0 85,3	8,4	468,2	71,4	120,2 80,1	10,4	298,7	61,8	0,436
Węglowodany przyswajalne Assimilable carbohydrates [mg]	201,6	60,3	779,0	93,9	179,4	65	366,7	63,8	0,070
Kwasy / Acids N-3 [g]	2,22	0,24	10,26	1,85	2,1	0,3	8,3	1,4	0,565
Kwasy /Acis N-6 [g]	7,62	1,55	21,80	4,09	7,7	1,6	23	4,6	0,849
Glukoza / Glucose [g]	7,81	0,42	32,78	5,61	9	1,6	34	5,4	0,147
Fruktoza / Fructose [g]	10,12	0,4	39,7	8,09	11,5	1,4	40,3	7,3	0,246
Sól /Salt [g]	7,9	2,2	18,8	3,6	7,1	2,1	13,4	2,8	0,130
% energii z białka Energy from protein	18,65	8,621	33,47	5,2	18,7	10,7	31,6	5	0,895

% energii z tłuszczu Energy from fat	31,44	8,775	52,46	8,9	30,9	10,2	49,3	8,4	0,698
% energii z węglowodanów Energy from carbohydrates	47,09	21,440	73,03	9,5	47,4	20,8	72,9	10,1	0,838
% energii z błonnika Energy from fiber	2,42	1,041	5,53	1,01	2,9	1	5,7	0,9	0,000

Objaśnienia / Explanatory notes:

AI – poziom wystarczającego spożycia / sufficient intake level; RDA – poziom zalecanego spożycia / recommended intake level; SFA – nasycone kwasy tłuszczowe / saturated fatty acids; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe / monounsaturated fatty acids; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe / polyunsaturated fatty acids; x – średnia / mean value; min. – minimum; max. – maksimum / maximum; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; p – poziom prawdopodobieństwa / probability level

Udział energii z mono- i disacharydów stanowił w obu grupach kobiet 14,6 % przy zaleceniu poniżej 10 %, a spożycie sodu stanowiło około 200 % normy AI [5] a obecnie Światowa Organizacja Zdrowia WHO (World Health Organization) zaleca mniej niż 5 g soli (tj. < 2 g sodu) dziennie i planuje ograniczyć światowe spożycie soli o 30 % do roku 2025 [9, 19] oraz zaleca przez całe życie ograniczenie spożycia mono- i disacharydów do mniej niż 10 % całkowitego spożycia energii i sugeruje dalsze ograniczenie ich spożycia do poziomu poniżej 5 % [12]. Występujący niedobór żelaza w grupie kobiet młodszych stwarza ryzyko infekcji, zakażeń, a także obniża zdolność organizmu do walki z patogenami. Niedobór żelaza wiąże się również z zaburzeniem wytwarzania interleukiny 2 przez aktywowane limfocyty. Interleukina 2 jest fundamentem komunikacji pomiędzy limfocytami a komórkami NK [12].

Niedobór wapnia i witaminy D w dietach badanych kobiet wynika m.in. z nieodpowiedniej ilości i jakości spożywanych produktów mlecznych. W tabeli 3 podano wartość średnią oraz medianę ilości spożycia produktów i potraw mlecznych ze względu na występowanie wartości skrajnych. Zgodnie z zaleceniami mleko i przetwory mleczne ze względu na ich wysoką wartość odżywczą i korzystny wpływ na zdrowie człowieka powinny być spożywane w ilości 2 ÷ 3 porcji/dobę, przy czym 1 porcja odpowiada 250 ml napoju mlecznego lub 15 g sera białego maksymalnie półtłustego lub 10 g sera podpuszczkowego. Szczególna wartość tych wyrobów wynika z zawartości swoistych składników mleka, takich jak wapń, witaminy, białko - kazeina, składająca się z frakcji: α S1 (55 %), α S2 (25 %), β (15 %) oraz κ (5 %), a także białka serwatkowe: α -laktoalbumina, β -laktoglobulina, albumina osocza, zwana serum oraz inne bioaktywne substancje białkowe, takie jak: immunoglobuliny (IgA, IgM, IgG), hormony, cytokiny, nukleotydy czy enzymy [7].

Tabela 3. Dienne spożycie produktów i potraw mlecznych przez kobiety przed 60. rokiem życia i od 60. roku życia.

Table 3. Daily consumption of dairy products and dishes by women before the age of 60 and women aged 60 or older

Produkty i potrawy mleczne [ml lub g] / Dairy products and dishes [ml or g]	Kobiety < 60 lat (n=32) Women < 60 (n=32)			Kobiety ≥ 60 lat (n=28) Women ≥ 60 years (n=28)		
	x	M	SD	x	M	SD
Mleko pełnotłuste / Whole milk	0			0		
Mleko o obniżonej zawartości tłuszczu Reduced fat milk	11.5	0	20.8	2.4	0	4.6
Mleko w proszku odtłuszczone Skimmed milk powder	0.1	0	0.2	0	0	0
Mleko w proszku pełne / Whole milk powder	0	0	0	0	0	0
Mleko zagęszczone niesłodzone Unsweetened condensed milk	0	0	0	0	0	0
Mleko zagęszczone słodzone Sweetened condensed milk	0	0	0	0	0	0
Jogurty i napoje jogurtowe Yogurts and yogurt drinks	52	0	67.1	52.5	26.3	51.8
Jogurty i napoje jogurtowe wzbogacane Fortified yogurts and yogurt drinks	0	0	0	0	0	0
Mleko ukwaszone i napoje z mleka ukwaszonego Cured milk and acidified milk drinks	30.7	0	53.8	8.3	0	14.9
Serwatka w proszku / Whey powder	0	0	0	0	0	0
Sery podpuszczkowe twarde Hard rennet cheeses	8.3	0	9.5	6.4	0	7.3
Sery podpuszczkowe topione Melted rennet cheeses	0	0	0	0	0	0
Sery pleśniowe / Blue cheeses	2	0	3.6	0.8	0	1.5
Sery twarogowe krojone / Sliced curd cheeses	14.4	2.5	16	33.3	24.2	26.4
Sery w pojemniczkach / Cheese in containers	32.8	0	39.9	23.2	0	33.9
Zupy mleczne / Milk soups	65.5	15	72.7	58.4	33.3	57.3
Potrawy z sera (tj. naleśniki, pierogi) / Cheese dishes (i.e. pancakes, dumplings)	4.1	0	7.4	8.1	0	13.2

Objaśnienia / Explanatory notes:

x – średnia / mean value; M – mediana / median; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; p – poziom prawdopodobieństwa / probability level

Mleko w swoim składzie zawiera również szereg innych cennych pierwiastków (fosfor, potas, cynk, selen) i witamin (w tym witamina D), których przyswajalność jest wysoka. Drogocennym i bardzo pożądanym składnikiem mleka oraz produktów z nie-

go pozyskiwanych jest sprzężony kwas linolowy (CLA), kwas masłowy oraz kwasy tłuszczowe wielonienasycone z rodziny omega-3. Odnosnie do preferencji spożycia produktów mlecznych, z badania Nowaka wynika, że 98 % badanych deklaruje spożycie produktów mlecznych w tym 97 % spożywało jogurt, 94 % kefir, 63 % maślanek [14]. Także w naszym badaniu kobiety preferowały bardziej spożycie mlecznych napojów fermentowanych niż mleka, jednakże ich spożycie było bardzo małe i wyniosło u kobiet przed 60. r.ż. 82,7 ml/dobę (około 1/2 małego pojemniczka), a u kobiet po 60. r.ż. 60,8 ml/dobę (około 1/3 małego opakowania). U kobiet młodszych stwierdzono większe spożycie serków w pojemniczkach (32,8 g/dobę vs. 23,2 g/dobę), serów podpuszczkowych twardych (8,3 g/dobę vs. 6,4 g/dobę) a u kobiet starszych więcej serów twarogowych (odpowiednio: 33,3 g/dobę vs. 14,4 g/dobę). Nasze badanie wykazało, że łączne spożycie produktów mlecznych w przeliczeniu na mleko było większe w grupie kobiet starszych (≥ 60 lat) (546,9 ml/dobę) niż u kobiet w wieku poniżej 60. r.ż. (496,3 ml/dobę). Wraz ze spożyciem produktów mlecznych podaż wapnia z diety u kobiet młodszych wyniosła 297 mg/dobę a u kobiet starszych 251,3 mg/dobę. Przy założeniu dziennego zapotrzebowania na wapń (1200 mg/dobę) dla osoby dorosłej można przyjąć, że produkty spożywcze pokrywają tę ilość przy spożyciu szklanki mleka o zawartości 2 % tłuszczu (230 ml), szklanki jogurtu naturalnego o zawartości 2 % tłuszczu i 3 plasterków (50g) sera żółtego Gouda łącznie.

W porównaniu z mlekiem napoje mleczne fermentowane, zwłaszcza jogurt i kefir, są bardziej odżywcze i stanowią doskonałe źródło probiotyków takich jak *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* (mT) w jogurcie oraz L. kefir, *Leuconostoc*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces ceravisae*, *Saccharomyces omnisporus* w kefirze. Probiotyki wykazują wielokierunkowe oddziaływanie na organizm człowieka, ograniczając ryzyko wystąpienia wielu chorób cywilizacyjnych, a modyfikacja flory bakteryjnej jelit za pomocą diety ma na celu zrównoważenie jej składu, przez co staje się kluczowa w walce z zaburzeniami metabolicznymi. Zaobserwowano, że poprawiały one metabolizm węglowodanów, poziom glukozy we krwi na czczo, wrażliwość na insulinę oraz status antyoksydacyjny u osób z cukrzycą typu 2, oprócz tego niektóre poprawiły parametry wątroby i metaboliczne u pacjentów z NAFLD, u których dochodzi do zaburzenia równowagi mikroflory jelitowej, nieprawidłowości bariery jelitowej oraz zaburzenia jej integralności [3, 16, 18]. Probiotyki mogą stanowić istotny czynnik wspomagający leczenie otyłości, zespołu metabolicznego, niealkoholowego stłuszczenia wątroby i cukrzycy typu 2 [15]. Zaobserwowano także ich korzystny wpływ na zaparcia u osób starszych [13].

Eksperti WHO i FAO potwierdzili, że istnieją wystarczające dowody naukowe wskazujące, że organizm człowieka odnosi korzyści zdrowotne ze spożywania żywno-

ści zawierającej probiotyki m.in. w leczeniu infekcji żołądkowo-jelitowych, niektórych zaburzeniach jelit, alergii i infekcjach układu moczowo-płciowego [4].

Jednakże w ostatnich latach obserwuje się modę na odtłuszczone produkty mleczne, które zawierają mniejszą ilość witaminy D lub nie zawierają jej wcale, gdyż rozpuszczalna jest głównie w tłuszczach. Główną funkcją witaminy D jest utrzymanie w organizmie prawidłowego stężenia wapnia i fosforu. Wpływa ona także na prawidłowy rozwój układu kostnego oraz utrzymanie go w dobrej formie w starszym wieku. Pobudza także komórki do wytwarzania przeciwciał chroniących układ odpornościowy oraz zmniejsza ryzyko wystąpienia nadciśnienia, nowotworów i chorób autoimmunologicznych. Jest również niezbędna w utrzymaniu zdrowych mięśni i stawów. Rola witamina D polega także na wzmacnianiu działania gonadotropiny, czyli hormonu wpływającego na pracę jajników i dojrzewanie komórek jajowych. Prawidłowy poziom tej witaminy spowalnia także proces starzenia się jajników. Poza tym ogranicza bolesne skurcze macicy, a także uczucie rozdrażnienia, czyli objawy charakterystyczne dla zespołu napięcia przedmiesiączkowego (PMS) [1]. Wykazano również, że niskie stężenie witaminy D występuje u kobiet z zaburzeniami endokrynologicznymi i metabolicznymi, może mieć wpływ na rozwój PCOS - zespołu policystycznych jajników i endometriozy - nieprawidłowego położenia błony śluzowej macicy [1]. W naszym badaniu stwierdzono brak spożycia mleka pełnotłustego w obu grupach kobiet, minimalne spożycie mleka o obniżonej zawartości tłuszczu, które było spożywane głównie jako dodatek do kawy oraz niewielkie spożycie zup mlecznych (65,5 ml/dobę u kobiet w wieku poniżej 60. lat i 58,4 ml/dobę u kobiet w wieku starszym). Należy ponadto zaznaczyć, iż aktywna forma witaminy D jest endogennym czynnikiem zwiększającym absorpcję wapnia, pierwiastka, którego spożycie było niedoborowe.

Kolejną modą, a jednocześnie złym zachowaniem zdrowotnym, jest nieuzasadniona eliminacja spożycia produktów mlecznych z laktozą przez osoby zdrowe. Przesławianie się na produkty bez laktozy przy braku takiej potrzeby może szkodzić. W zależności od regionu w populacji europejskiej 10 ÷ 15 procent wykazuje nietolerancję na laktozę [5]. Charakteryzuje się ona niedoborem enzymu laktazy, co prowadzi do jej późniejszej nietolerancji. Głównymi przyczynami nietolerancji może być tzw. hipolaktazja – czyli niedobór enzymu laktazy i alaktazja – wrodzony niedobór laktazy. Laktaza jest enzymem naturalnie występującym w układzie pokarmowym wszystkich ssaków, w tym człowieka, i jej funkcja polega na rozkładzie laktozy do cukrów prostych: glukozy i galaktozy. U osób z nietolerancją laktozy dieta nie zawsze musi całkowicie eliminować laktozę. W wielu przypadkach może być ona spożywana i trawiona, gdy jest dostarczana w niewielkich ilościach w dłuższych odstępach czasowych. Poza tym przy nietolerancji laktozy, oprócz wprowadzenia odpowiedniej diety eliminacyjnej, zaleca się stosowanie preparatów z laktazą oraz suplementów diety uzupełniających niedobory wapnia. Sam enzym nie jest szkodliwy, ale nadmiar syntetycznej

laktazy może w przypadku ciężkich infekcji przewodu pokarmowego, podczas których doszło do uszkodzenia kosmków jelitowych, powodować wtórną hipolaktazję, która prowadzi do nietolerancji produktów zawierających laktozę. Wówczas zaleca się wprowadzić dietę całkowicie bezlaktozową na okres 4-6 tygodni. Poza tym bardziej szkodliwe od laktozy może być białko enzymów stosowanych w produkcji produktów bezlaktozowych. Może się wówczas okazać, że u osób, których organizmy trawiły laktozę, problemy wystąpią dopiero po spożyciu produktów bez tego cukru. Wiąże się to z zastąpieniem laktozy innym cukrem – galaktozą, która również może być nietolerowana przez niektórych ludzi.

Wnioski

1. Wykazano w obu grupach badanych kobiet błędy żywieniowe. Stwierdzono niedostateczne spożycie wapnia, jodu, folianów, witaminy D oraz potasu i witaminy B1 u kobiet starszych. Natomiast spożycie mono- i disacharydów, sodu, soli było wysokie i niezgodne z zaleceniami zdrowego żywienia.
2. Ilość spożytych produktów mlecznych była niewystarczająca w dietach obu badanych grup kobiet by pokryć zapotrzebowanie na wapń i witaminę D.
3. Niskie spożycie produktów mlecznych fermentowanych przez badane kobiety może nie odnieść korzystnego dla zdrowia działania profilaktycznego i terapeutycznego.
4. Preferencje spożycia produktów będących źródłem probiotyków i ich wpływu na zdrowie człowieka w różnych okresach wieku wymagają dalszych badań.

Badanie wykonano w ramach badań własnych NIZP PZH – PIB (1DMBW/2021-Zmiana zachowań żywieniowych oraz wybranych parametrów biochemicznych i antropometrycznych w wyniku edukacji dietetycznej ze szczególnym zwróceniem uwagi na spożycie kwasu foliowego w grupie pacjentów z podwyższonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych). Praca była prezentowana podczas XIII Sympozjum Naukowego „Probiotyki i Prebiotyki w Żywności”, Kiry pod Zakopanem, 19-21.04.2023 r.

Literatura

- [1] Alshahrani F., Aljohani N.: Vitamin D: deficiency, sufficiency and toxicity. *Nutrients* 2013, 5, 3605-3616.
- [2] Bajger B., Brukwicka I., Kollar R., Kollarova M., Kopański Z., Woźniak M.: Związki stylu życia ze zdrowiem. *J. Clin. Healthcare*, 2015, 4, 4-9.
- [3] Eslamparast T., Poustchi H., Zamani F. i in.: Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2014, 99, 535-542.
- [4] FAO/WHO (2006) Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and


- Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001 [and] Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London, Ontario, Canada, 30 April-1 May 2002. FAO Food and Nutrition Paper 85, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Rome.
- [5] Fidler-Witoń E., Mądry E., Krasieńska B., Walkowiak J.: Nietolerancja laktozy i jej uwarunkowania. *Fam. Med. Prim. Care Rev.*, 2011, 13 (2), 308-310.
- [6] Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, Institute of Medicine, Dietary Reference Intakes (2010). Washington: National Academy of Sciences.
- [7] Franzoi M., Niero G., Visentin G., Penasa M., Cassandro M., De Marchi M.: Variation of Detailed Protein Composition of Cow Milk Predicted from a Large Database of Mid-Infrared Spectra. *Animals*, 2019, 9 (4), 176.
- [8] Grądział J., Kulik A., Smotrycka A.: Zachowania zdrowotne studentek – charakterystyka i znaczenie zmiennych socjodemograficznych. *Prob. Hig. Epidemiol.* 2017, 98, 371-380.
- [9] Guideline: sodium intake for adults and children. Geneva: World Health Organization 2012. (https://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf)
- [10] Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting London, Ontario, Canada, 30 April-1 May, 2002. https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- [11] Jarosz M., Rychlik E., Stoś K., Charzewska J.: Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie. Wyd. NIZP – PZH 2200.
- [12] Krzysik M., Biernat H., Grajeta H.: The influence of Chosen Nutrients on Immune System Functioning. Part II. Immunomodulatory Effects of Vitamins and Trace Elements on the Human Body. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2007, 1 (16), 123-133.
- [13] Martinez-Martinez M.I., Calabuig-Tolsa R., Cauli O.: The effect of probiotics a treatment for constipation in elderly people: A systematic review. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2017, 71, 142-149.
- [14] Nowak M. Trziszka T., Szotysik M.: Preferencje konsumentów mlecznych napojów fermentowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 1 (50), 77-83.
- [15] Plaza-Diaz J., Ruiz-Ojeda F.J., Gil-Campos M., Gil A.: Mechanisms of action of probiotics. *Adv. Nutr.* 2019, 10, 49-66.
- [16] Sáez-Lara M., Robles-Sanchez C., Ruiz-Ojeda F., Plaza-Diaz J., Gil A. Effects of Probiotics and Synbiotics on Obesity, Insulin Resistance Syndrome, Type 2 Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Human Clinical Trials. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, 17, 928.
- [17] Sobotko E.: Style życia we współczesnym społeczeństwie i ich wpływ na zachowanie rynkowe młodych konsumentów. *Wroclaw Econom. Revi.* 2017, 23, 71-83.
- [18] Wasilewska E., Złotkowska D., Pijagin M.: Rola mikroflory jelitowej i bakterii probiotycznych w profilaktyce i rozwoju raka jelita grubego. *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2013, 67, 837-847
- [19] WHO global sodium benchmarks for different food categories. World Health Organization 2021.
- [20] WHO guideline on health workforce development, attraction, recruitment and retention in rural and remote areas. World Health Organization 2021. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/149782/9789241549028_eng.pdf

**COMPARATIVE ANALYSIS OF A DIET OF WOMEN OF DIFFERENT AGES,
INCLUDING THE CONSUMPTION OF DAIRY PRODUCTS, A SOURCE
OF PROBIOTICS – PILOT STUDIES**

S u m m a r y

Background. Dairy products, including fermented beverages, are a valuable source of nutrients and probiotics. The aim of the study was to assess a diet of women and assess the consumption of dairy products with a diet, with particular emphasis on fermented beverages, which are a source of probiotics. The study involved 60 women aged between 28 and 82, divided into two groups: before 60 years of age and 60 years of age or older. The assessment of the diet was carried out using the current recording method for three days and anthropometric measurements were made.

Results and conclusion. Younger women showed statistically significantly higher intake of energy, saturated fatty acids, sucrose, assimilable carbohydrates, as well as body weight and BMI. In both groups, the share of energy from mono- and disaccharides was too high. The diets were deficient in calcium, iodine, folates, vitamin D and in vitamin B1 and potassium in older women. The total consumption of dairy products, expressed in milk, including cottage cheese, was higher in women over 60 years of age. Younger women had higher consumption of cheeses in containers and hard rennet cheeses. Daily consumption of fermented milk beverages was very low. Nutritional errors were found in both groups of women. Serious calcium, iodine, folates, vitamin D, potassium and vitamin B1 deficiencies were found in older women. The consumption of sugars, sodium and salt was not in line with recommendations. The amount of dairy products consumed was insufficient to cover the demand for calcium and vitamin D, and the low consumption of fermented beverages was insufficient to allow women to benefit from prophylactic and therapeutic effects. Further research into the preferences of consumption of products that are a source of probiotics and their impact on human health is recommended.

Key words: nutrients, nutrition, probiotics, milk products 

EWELINA SIDOR, KAROLINA TRYBULEC, MONIKA TOMCZYK,
MAŁGORZATA DŻUGAN

SPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) JAKO SKŁADNIK NAPOJÓW FUNKCJONALNYCH

Streszczenie

Wprowadzenie: Spirulina jest zaliczana do kategorii tzw. super foods, których właściwości mają wpływać korzystnie na organizm człowieka i znalazła zastosowanie jako naturalny składnik barwiący żywność. Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających i osmotycznych napojów przygotowanych na bazie różnych form spiruliny dostępnych w handlu i wody kokosowej jako naturalnego izotonicznego rozpuszczalnika. W oparciu o wyznaczone widma absorpcyjne i właściwości przeciwutleniające ekstraktów spiruliny (3 partie zielonej i 2 niebieskiej) wyselekcjonowano próbki o najwyższej aktywności do kolejnego etapu badań. Napoje wytworzono na bazie wody kokosowej (próba kontrolna) i spiruliny zielonej lub niebieskiej z rosnącym udziałem dodatku 0,1; 0,25 i 0,5 % w/v (łącznie 7 napojów). Porównano zawartość polifenoli, właściwości przeciwutleniające (DPPH) i osmotyczne wytworzonych napojów.

Wyniki i wnioski. Wykazano, że napoje na bazie niebieskiej spiruliny charakteryzują się wyższą, proporcjonalną do zastosowanego udziału dodatku, zawartością białka, polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną niż napoje z zieloną spiruliną. Osmolalność wszystkich napojów zawierała się w granicach od 315 do 336 mOsm/kg H₂O, co odpowiada wymaganiom stawianym napojom izotonicznym. Napoje na bazie niebieskiej spiruliny charakteryzowały się intensywną niebieską barwą i lepszymi cechami organoleptycznymi w porównaniu do zielonej spiruliny i wody kokosowej, jednak dodatek 0,5 % niekorzystnie wpłynął na walory organoleptyczne napoju. Wytworzone napoje mogą być zaliczone do napojów funkcjonalnych, dobrze nawadniających organizm, a dodatkowo wzbogaconych w cenne składniki odżywcze.

Słowa kluczowe: *Arthrospira platensis*, spirulina, fikocyjanina, napój izotoniczny, aktywność antyoksydacyjna

Wprowadzenie

Spirulina to handlowa nazwa niebiesko-zielonych mikroalg występujących naturalnie w tropikalnych i subtropikalnych jeziorach, w których woda odznacza się wyso-

kimi wartościami pH oraz niezwykle dużą zawartością soli, zwłaszcza węglanów i wodorowęglanów [14]. Na skalę przemysłową spirulinę pozyskuje się z alg uprawianych w ciepłych wodach wielu krajów na całym świecie, a do największych producentów należą Stany Zjednoczone, Chiny, Tajlandia oraz Tajwan i Indie. Nazwa spiruliny pochodzi od spiralnych włókien o rozmiarach $50 \div 500 \mu\text{m}$ długości i $3 \div 4 \mu\text{m}$ szerokości [12, 13], które można obserwować w mikroskopie świetlnym [5]. Systematycznie spirulina obejmuje dwa gatunki: *Arthrospira platensis* i *Arthrospira maxima*, które stosowane są w technologii żywności do produkcji suplementów diety lub jako dodatki paszowe. Na rynku dostępna jest również *Arthrospira pacifica* – pozyskiwana wyłącznie na Hawajach.

Spirulina jest cyjanobakterią, która wykazuje właściwości antyoksydacyjne zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*, wynikające z jej bogatego składu chemicznego, w którym dominuje dobrze przyswajalne białko ($60 \div 70\%$), chlorofil, nienasycone kwasy tłuszczowe (kwas gamma-linolenowy – GLA), przeciwutleniające, witaminy i minerały. Korzystne składniki zawarte w spirulinie są łatwo przyswajalne przez organizm, ponieważ ściany komórkowe alg nie zawierają celulozy i łatwo podlegają trawieniu w przewodzie pokarmowym człowieka [15].

Kompozycja związków bioaktywnych występujących w spirulinie wykazuje wysoki potencjał antyoksydacyjny, potwierdzony zarówno w prostych testach kolorymetrycznych, jak i w bardziej zaawansowanych badaniach na liniach komórkowych [8, 11, 13]. Wykazano, że ekstrakty niebiesko-zielonej mikroalgi, mają silniejsze właściwości przeciwutleniające niż witamina E, karoten czy też kwas galusowy, mogą hamować apoptyczną śmierć komórek fibroblastów myszy wywołaną przez wolne rodniki [23]. Szczególnie wysoki potencjał antyoksydacyjny przypisuje się fikocyjaninie (niebieski pigment spiruliny), z uwagi na jej udowodnione właściwości przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe i przeciwnowotworowe oraz zdolność do „zmiatania” wolnych rodników i hamowania peroksydacji lipidów [15, 23].

Zielona spirulina występuje najczęściej w postaci suplementów diety w postaci proszku, tabletek, kapsułek lub w postaci płynnej, m.in. ekstraktów, olejków czy napojów. W sprzedaży można spotkać różne formy zielonej spiruliny: proszek, tabletki, kapsułki otrzymywane na bazie wysuszonych na słońcu alg oraz płynny wyciąg w ampułkach, tłoczony na zimno ze świeżych alg. W zależności od miejsca pozyskania, technologii produkcji i przerobu jej skład chemiczny, właściwości prozdrowotne, barwa i smak mogą się znacznie od siebie różnić [11]. Wysoką jakość suplementów diety na bazie spiruliny określa w dużej mierze intensywność ich barwy. Jeżeli tabletki bądź kapsułki są wyraźnie ciemnozielone, zawierają mniej dodatków wiążących, takich jak np. krzemionka, lecytyna sojowa lub stearynian magnezu [2]. Z kolei niebieska spirulina to suchy ekstrakt pozyskiwany z niebiesko-zielonych mikroalg, wzbogacony o skondensowaną fikocyjaninę – niebieski barwnik występujący w kompleksie

białkowym wchodzącym w skład fikobiliprotein (20 ÷ 28% suchej masy spiruliny). Pigment jest rozpuszczalny w wodzie oraz wrażliwy na wysoką temperaturę i zmiany pH, co ogranicza jego zastosowanie do barwienia produktów spożywczych.

Potencjał funkcjonalny spiruliny i jej wykorzystanie w produkcji żywności wynika ze stale odkrywanych prozdrowotnych korzyści z jej stosowania [16], stąd wydaje się być dobrym składnikiem do produkcji żywności funkcjonalnej. Rynek tej żywności w ciągu ostatnich lat stale wzrasta, a jednym z głównych asortymentów są napoje funkcjonalne. Są to produkty, które wpływają na poprawę kondycji organizmu i przynoszą określone korzyści fizjologiczne. Algi, do których należy spirulina, są jednym z najlepszych źródeł składników funkcjonalnych [3, 17], a na polskim rynku rośnie zainteresowanie spiruliną jako wszechstronnym dodatkiem do różnego rodzaju koktajli czy napojów typu smoothie. Dodatek spiruliny do koktajlu pozwala na pełne pokrycie dziennego zapotrzebowania na witaminę B12 [6]. Wciąż jednak nie ma danych dotyczących strat witamin oraz składników mineralnych w okresie przydatności do spożycia, dlatego też w tym zakresie niezbędne są dalsze badania [6].

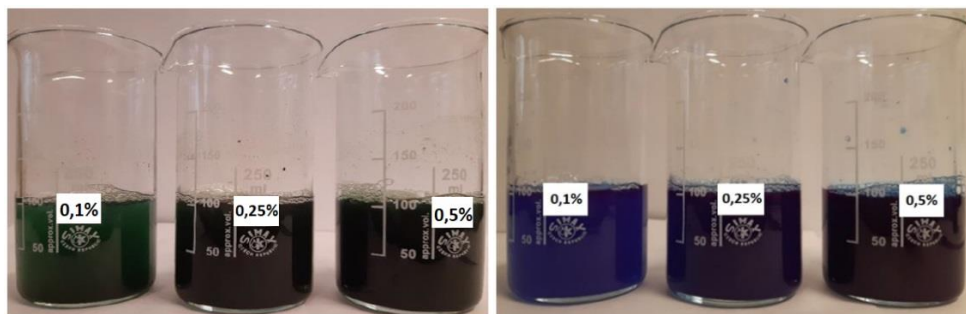
Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania zielonej i niebieskiej spiruliny w produkcji napojów i ocena ich potencjału antyoksydacyjnego i właściwości izotonicznych.

Material i metody

Material badany

Material badany stanowiły sproszkowane produkty handlowe zielonej spiruliny (*Spirulina platensis*) trzech różnych dystrybutorów (Targroch Filipowice, Fit-Shop Polska, BioPlanet, Polska) oraz dwie partie niebieskiej spiruliny producentów: The Organic Lab Nordic (Szwecja) oraz Ko-Ro Handels (Niemcy) (według etykiety ekstrakty ze *Spirulina platensis*). Partie spiruliny zakupiono w sprzedaży internetowej. Ekstrakty przygotowano poprzez zawieszenie 50 mg materiału w 5 cm³ rozpuszczalnika (woda, 96-procentowy etanol), ekstrakcję prowadzono w łaźni wodnej ultradźwiękowej (40 kHz, 800 W; Polsonic Sonic-10, Polska) przez 45 minut (temperatura w łaźni nie przekraczała 30 °C). Następnie próbki wirowano przez 5 min w wirówce laboratoryjnej przy 10 000 rpm (MPW-351R, Med. Instruments, Warszawa, Polska). Oddzielone supernatanty rozcieńczono do badań dwukrotnie odpowiednim rozpuszczalnikiem. Woda kokosowa Vita 100 % stosowana jako baza napoju została zakupiona na lokalnym rynku (dystrybutor ALLCOR S.C., Sokołów Podlaski). Według etykiety skład obejmował wodę z młodego kokosa,; wartość energetyczna produktu to 22 kcal/100 cm³, tłuszcz 0 g, węglowodany 5,5 g (w tym cukry 5,2 g), białko 0 g, sól 0,05 g, witamina C 4 mg w 100 cm³.

Wytworzono napoje funkcjonalne na bazie wody kokosowej z dodatkiem sproszkowanej zielonej (Z 2) oraz niebieskiej (N 2) spiruliny, o najwyższej aktywności antyoksydacyjnej, w 2 powtórzeniach (łącznie 7 napojów). Do odważonej porcji algi (0,1; 0,25 i 0,5 g) dodano po 100 cm³ wody kokosowej, całość wymieszano, uzyskując w ten sposób barwne roztwory 0,1; 0,25 i 0,5 % w/v (Fot. 1).



Fot. 1. Napoje z dodatkiem zielonej spiruliny (po lewej) i niebieskiej (po prawej)

Photo. 1. Drinks with the addition of green (left) and blue (right) spirulina

Metody badań

Pomiar widma absorpcji

Do pomiaru widma wykorzystano czytnik mikroplętek Epoch 2 (BioTek, USA). Odpipetowano 250 µl analizowanych ekstraktów wodnych i etanolowych spiruliny zielonej i niebieskiej do dołków płytki 96-dołkowej, następnie dokonano pomiaru absorpcji w zakresie długości fal $\lambda = 240 \div 800$ nm. Wyniki przedstawiono w formie widma ($A = f(\lambda)$).

Oznaczenie zawartości białka metodą Bradforda

Oznaczenie zawartości białka przeprowadzono, wykorzystując komercyjny zestaw Quick Start™ Bradford Protein Assay firmy BioRad zgodnie z instrukcją producenta. Do 5 µl badanej próbki (wodny ekstrakt z alg lub napój) dodano 250 µl odczynnika Bradforda. Po dokładnym wymieszaniu i 5 min inkubacji bez dostępu światła dokonano pomiaru absorpcji próbek względem próby zerowej (H₂O dest.) przy długości fali 595 nm za pomocą czytnika mikroplętek Epoch 2 firmy „BioTek” (USA). Wyniki przeliczono na zawartość białka w spirulinie w g/100 g w oparciu o krzywą wzorcową $y = 0,145 \cdot x$ wykonaną dla albuminy wołowej w zakresie stężeń 100 ÷ 1000 µg/ml.

Oznaczenie właściwości przeciwutleniających metodą DPPH

Do 20 µl badanej próbki dodano 180 µl odczynnika DPPH'. Próbę kontrolną stanowiła mieszanina 20 µl H₂O destylowanej i 180 µl odczynnika. Po 30 min inkubacji bez dostępu światła zmierzono absorbancję wszystkich próbek za pomocą czytnika mikroplętek przy długości fali 517 nm względem próby kontrolnej. Obliczono aktywność przeciwutleniającą na podstawie wzoru $AA = [(AB-AA)/AB] \times 100 \%$, gdzie: AA – absorbancja badanej próby; AB – absorbancja próby kontrolnej.

Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej metodą FRAP

Odpipetowano 20 µl badanej próbki oraz 180 µl odczynnika FRAP. Próbę zerową przygotowano mieszając 20 µl H₂O destylowanej z 180 µl odczynnika FRAP. Próbki inkubowano w temperaturze 37 °C przez 10 minut. Absorbancję próbek mierzono przy długości fali 593 nm względem próby zerowej. Wyniki podawano w przeliczeniu na równoważniki troloksu µmol TE/g spiruliny lub µmol TE/ml napoju, obliczono na podstawie krzywej wzorcowej dla troloksu ($y = 0,152 \cdot x$; $R^2 = 0,9990$) przygotowanej w zakresie stężeń 25 ÷ 300 nmol/mL.

Oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu

Oznaczenie TPC wykonano mieszając 20 µl próbki z 100 µl odczynnika Folina oraz 80 µl 7,5 % Na₂CO₃. Do próby zerowej użyto 20 µl H₂O destylowanej. Po 60 min inkubacji w ciemnym miejscu zmierzono absorbancję próbek przy długości fali 760 nm względem próby zerowej. Wyniki wyrażone jako równoważniki kwasu galusowego obliczono na podstawie krzywej wzorcowej dla kwasu galusowego ($y = 0,336 \cdot x$; $R^2 = 0,9970$) przygotowanej w zakresie stężeń 25 ÷ 150 µg/ml.

Oznaczenie osmolalności napojów

Do pomiaru osmolalności wytworzonych napojów wykorzystano krioskop Cryostar II LC (Funke Gerber, Berlin, Niemcy). Badanie osmolalności wykonano dla 100 µl próbki każdego napoju oraz wody kokosowej będącej bazą napojów. Wynik podano w jednostkach mOsm/kg H₂O.

Ocena organoleptyczna wytworzonych napojów

Przeprowadzono subiektywną ocenę smakowo-zapachową, oceniając barwę, smak i zapach wytworzonych napojów na bazie wody kokosowej oraz niebieskiej i zielonej spiruliny.

Obliczenia statystyczne

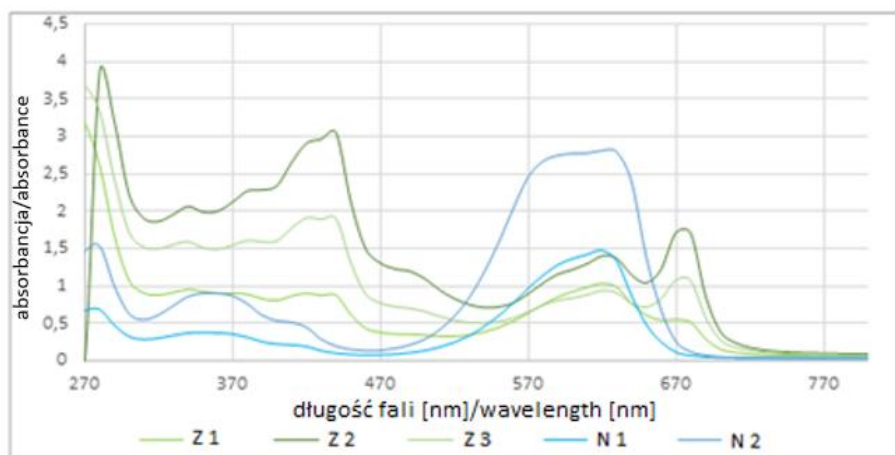
Dla uzyskanych wyników obliczono wartości średnie, odchylenie standardowe oraz korelację r-Pearsona. Zależność pomiędzy analizowanymi parametrami badano

wyznaczając współczynnik korelacji Pearsona. Różnice istotne statystycznie pomiędzy poszczególnymi próbkami wyznaczono za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA z zastosowaniem testu Tukeya. Wszystkie obliczenia wykonano w programie Statistica 13.3.

Wyniki i dyskusja

Wybór spiruliny o najwyższej zawartości składników bioaktywnych

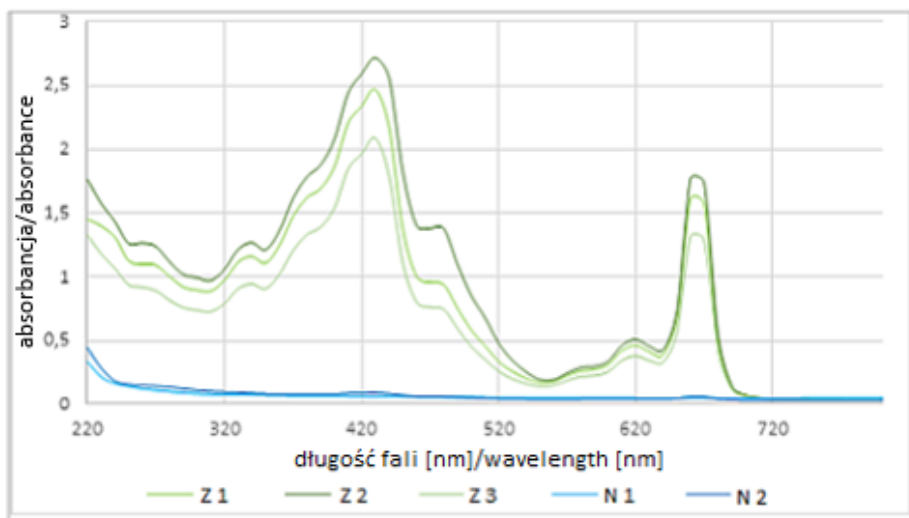
W celu porównania profilu naturalnych barwników w ekstraktach badanych próbek mikroalg (przygotowane w identycznych warunkach) dokonano pomiarów widm absorbancji UV/VIS w zakresie 240 ÷ 800 nm dla ekstraktów wodnych (Fig. 1) i etanolowych (Fig. 2).



Rys. 1. Pomiar widma ekstraktów wodnych zielonej (Z) i niebieskiej (N) spiruliny
Fig. 1. Spectrum measurement of water extracts of green (Z) and blue (N) spirulina

Ekstrakty wodne badanych próbek spiruliny zielonej (Z) wykazywały analogiczny przebieg widma (Fig. 1), z trzema pikami (maksymami absorbancji) przy długości fali 440 nm (pik 1), szeroki pik w zakresie 570 ÷ 650 nm (pik 2) i 680 nm (pik 3). Wysokość pików była mocno zróżnicowana pomiędzy badanymi próbkami ($Z2 > Z3 > Z1$). Z kolei pik 2 dominował w widmie spiruliny niebieskiej, przy czym wysokość pików była istotnie większa dla spiruliny N2 niż N1. W oparciu o dane literaturowe, piki występujące w widmach wodnych ekstraktów spiruliny można zidentyfikować jako chlorofile (pik 1 i 3) oraz fikocyjaniny (pik 2) [10, 19, 20]. Potwierdzeniem poprawności identyfikacji są widma absorbcyjne dla ekstraktów etanolowych, które dla spiruliny zielonej wykazują wyłącznie piki charakterystyczne dla chlorofili (pik 1 i 3), natomiast nie zawierają pików pochodzących od białka fikocyjaniny (Fig.

2). W ekstraktach etanolowych spiruliny niebieskiej nie stwierdzono obecności absorbujących barwników (brak ekstrakcji wywołanej denaturacją białka).



Rys. 2. Pomiar widma ekstraktów etanolowych zielonej (Z) i niebieskiej (N) spiruliny

Fig. 2. Spectrum measurement of ethanol extracts of green (Z) and blue (N) spirulina

Chlorofile są najbardziej rozpowszechnionymi barwnikami w przyrodzie, występują głównie jako chlorofil a i chlorofil b u wszystkich roślin przeprowadzających fotosyntezę, a maksimum absorpcji wynosi 430 i 662 nm dla chlorofilu a oraz 453 i 642 nm dla chlorofilu b [10, 19]. Wykazano nieznaczne różnice podczas analizy widm absorpcji chlorofilu ekstrahowanego różnymi rozpuszczalnikami. Największe różnice wykazywały widma pomiędzy eterem dietylowym (660 nm) a czystym metanolem (665,2 nm) dla chlorofilu a oraz odpowiednio 641,8 i 652,4 nm dla chlorofilu b [4]. Z kolei fikocyjanina wykazuje maksimum absorpcji w przedziale 620 ÷ 650 nm [20]. Inni autorzy analizowali wpływ zastosowania różnych rozpuszczalników na zmianę widma ekstraktów spiruliny biorąc także pod uwagę oznaczane typy barwników [22]. Do ekstrakcji barwników chlorofilowych oraz karotenoidowych autorzy wykorzystali aparat Soxhleta, natomiast do izolacji fikocyjaniny – technikę ekstrakcji na zimno (macerację). Zawartość barwników chlorofilowych w spirulinie odnotowano przy długości fali 652 ÷ 655 nm, dla karotenoidowych przy 450 nm, a dla fikocyjaniny przy 615 ÷ 625 nm.

Analizowano potencjał antyoksydacyjny mierzony jako zdolność do zmiatania rodnika DPPH[•] dla wodnych ekstraktów spiruliny (tabela 1). Największą zdolnością do wygaszania wolnych rodników DPPH[•] spośród partii zielonej spiruliny charakteryzo-

wała się próbka Z 2, zaś najmniejszą – Z 1. W przypadku spiruliny niebieskiej większymi wartościami odznaczała się spirulina N 2, a wszystkie przedstawione wyniki dla zielonej i niebieskiej spiruliny różniły się między sobą istotnie statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela 1. Analiza potencjału antyoksydacyjnego (DPPH^{*}, FRAP), całkowitej zawartości związków polifenolowych (TPC) oraz białka w ekstraktach wodnych próbek zielonej i niebieskiej spiruliny

Table 1. Analysis of antioxidant potential (DPPH, FRAP), total polyphenolic compounds (TPC) and protein content in water extracts of green and blue spirulina samples

Oznaczenie próbki Sample designation	FRAP [μM TE/g]	DPPH [*] [% inhibicji/ inhibition]	TPC [mg GAE/g]	Białko / Protein [g/100 g]
Z1	41,60 ^b ± 0,20	28,41 ^b ± 0,37	11,49 ^b ± 0,22	60,34 ^c ± 1,12
Z2	51,43 ^d ± 0,33	35,67 ^d ± 0,42	16,92 ^d ± 0,60	57,42 ^b ± 0,95
Z3	46,51 ^c ± 0,87	32,95 ^c ± 0,79	16,36 ^c ± 0,63	66,81 ^d ± 0,88
N1	19,14 ^a ± 0,35	22,98 ^a ± 0,32	9,29 ^a ± 0,06	37,81 ^a ± 0,15
N2	54,41 ^e ± 0,52	37,50 ^e ± 0,48	22,81 ^e ± 0,17	37,04 ^a ± 0,32

Objaśnienia / Explanatory notes:

a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$ / a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p < 0,05$

W literaturze dostępne są informacje odnośnie do analizy zdolności ekstraktów alkoholowych (w 96 % et. OH) spiruliny do redukcji rodnika DPPH^{*} [25]. Takyar i wsp. [25] wykazali, że zdolność przeciwutleniająca oznaczona metodą DPPH^{*} jest zależna od dawki niebiesko-zielonej mikroalgi. W przypadku dawki 0,2 mg/cm³ zdolność zmiatania rodnika DPPH^{*} wynosiła 40,46 %, dla 0,4 mg/ml i 0,6 mg/ml odpowiadała wartościom 62,46 % oraz 77,12 %. Z kolei Castro i wsp. [7] oceniali aktywność przeciwutleniającą metodą DPPH w wodnych i metanolowych ekstraktach spiruliny poddanej i niepoddanej fermentacji, którą przeprowadzono w celu zwiększenia wartości nutraceutycznej spiruliny. Wartość wskaźnika DPPH^{*} dla niefermentowanego ekstraktu wodnego oraz metanolowego wynosiła około 11 mg AAE/g, a zdolność do zmiatania rodnika DPPH^{*} niefermentowanych roztworów wodnych i alkoholowych była porównywalna. Aktywność przeciwutleniającą różnych ekstraktów z alg badali Agregán i wsp. [1]. Stwierdzili, że makroalgi (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*) wykazały wyższą aktywność przeciwutleniającą niż mikroalgi (w tym *Spirulina platensis*) we wszystkich testach, co tłumaczyli występowaniem w makroalgach florotanin, bogatych w związki wykazujące wysoką aktywność przeciwutleniającą.

Podobnie jak w przypadku testu DPPH^{*}, spośród ekstraktów spiruliny zielonej, największy potencjał redukujący jony żelaza (III) mierzony metodą FRAP stwierdzono

dla próbki Z 2. W przypadku analizy próbek spiruliny niebieskiej największy potencjał (54,41 $\mu\text{mol TE/g}$) wykazywała spirulina N 2. Takyar i wsp. [25] badając aktywność przeciwutleniającą *Arthrospira platensis*, dokonali pomiaru siły redukującej ekstraktów etanolowych (96 %) spiruliny w stosunku do jonów żelaza (III) za pomocą odczynnika FRAP. Podobnie jak w przypadku metody DPPH^{*}, wyższe stężenie mikroalg odpowiadało wyższej wartości w teście FRAP.

Oprócz aktywności przeciwutleniającej mierzonej bezpośrednio, w przygotowanych ekstraktach analizowano całkowitą zawartość związków polifenolowych. Podobnie jak w przypadku wcześniejszych oznaczeń najwyższą wartością TPC w przypadku zielonej spiruliny odznaczała się próbka Z 2, natomiast w przypadku niebieskiej – N 2, ponadto wyniki były statystycznie istotne ($p < 0,05$) pomiędzy próbkami zielonymi i niebieskimi, jak również w obrębie jednej odmiany. Biorąc pod uwagę kolor mikroalg, wyższe wartości TPC uzyskano dla spiruliny niebieskiej oznaczonej jako N 2, w porównaniu do pozostałych próbek. Na podstawie wyznaczonych współczynników korelacji stwierdzono, że ekstrakty spiruliny, które wykazywały silne działanie przeciwutleniające, zawierały dużą ilość związków polifenolowych ($r = 0,976$ oraz $r = 0,891$). Uśredniając wyniki TPC dla próbek zielonej oraz niebieskiej spiruliny, ale także biorąc pod uwagę rodzaj ekstrahenta można stwierdzić, że uzyskane wyniki są do siebie zbliżone, co może być związane ze zróżnicowaniem zawartości związków polifenolowych pomiędzy próbkami tego samego rodzaju. Castro i wsp. [7] poddali spirulinę fermentacji i wykazali, że wspomniany proces poprawia profil nutraceutyczny spiruliny. Wartości TPC w trakcie fermentacji wzrosły o 111,73 % w ciągu pierwszych 36 godzin w wyniku uwolnienia związków fenolowych, po bakteryjnej hydrolizie enzymatycznej ścian komórkowych spiruliny, a nieznaczny spadek TPC po początkowym okresie fermentacji, może być spowodowany degradacją termiczną niestabilnych substancji fenolowych.

Wyznaczone poziomy białka rozpuszczalnego były zgodne z zawartością białka deklarowaną przez producenta na etykiecie. Zaobserwowano istotnie niższą zawartość białka w próbkach spiruliny niebieskiej, w porównaniu do zielonej.

Analiza wytworzonych napojów funkcjonalnych

Do przygotowania napojów wykorzystano wodę kokosową, naturalny napój izotoniczny, charakteryzujący się niezbyt atrakcyjnym smakiem i podwyższoną mętnością. Jego połączenie z wyselekcjonowanymi próbkami spiruliny (Z2 i N2) ze względu na najlepsze właściwości antyoksydacyjne, miało na celu poprawę cech organoleptycznych i wzmocnienie właściwości antyoksydacyjnych. W tabeli 2 przedstawiono wyniki aktywności antyoksydacyjnej otrzymanych napojów oznaczonej testem FRAP, całkowitej zawartości związków polifenolowych oraz białka w zależności od wysokości zastosowanego dodatku mikroalgi.

Tabela 2. Analiza potencjału antyoksydacyjnego (DPPH, FRAP), całkowitej zawartości związków polifenolowych (TPC) oraz białka w napojach funkcjonalnych na bazie wody kokosowej oraz zielonej i niebieskiej spiruliny

Table 2. Analysis of antioxidant potential (DPPH, FRAP), total polyphenolic compounds (TPC) and protein content in functional drinks based on coconut water and green and blue spirulina

Rodzaj napoju Type of drink	Ilość dodatku spiruliny Spirulina addition amount	FRAP [$\mu\text{M TE}/\text{cm}^3$]	TPC [mg GAE/ cm^3]	Białko/ Protein [g/ cm^3]
Woda kokosowa (kontrola) Coconut water (control)	-	0,0398	0,336	0,006
Z 2	0,1%	4,04 ^b \pm 0,19	2,19 ^b \pm 0,04	0,121
	0,25%	6,73 ^a \pm 0,10	3,85 ^c \pm 0,16	0,148
	0,5%	8,88 ^c \pm 0,16	5,20 ^a \pm 0,05	0,291
N 2	0,1%	6,47 ^a \pm 0,11	5,17 ^a \pm 0,04	0,043
	0,25%	12,21 ^d \pm 0,14	8,23 ^d \pm 0,09	0,098
	0,5%	19,13 ^e \pm 0,12	11,65 ^e \pm 0,04	0,191

Objaśnienia: / Explanatory notes:

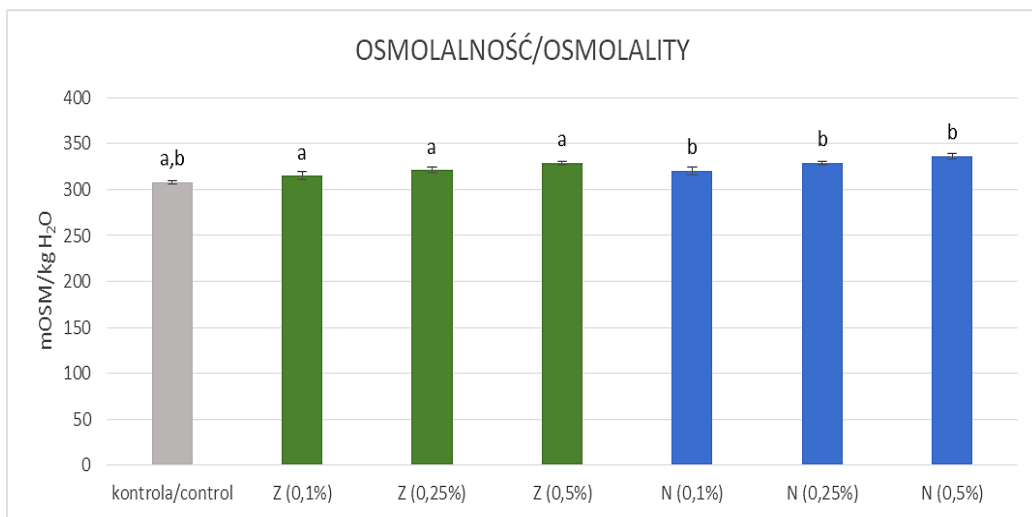
a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$ / a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$

Aktywność przeciwutleniająca badanych napojów wrosła proporcjonalnie do rosnącego dodatku spiruliny. Wykazano, że dodatek niebieskiej spiruliny w większym stopniu wzbogaca napój w związki o działaniu antyoksydacyjnym, co nie było tak mocno widoczne podczas analizy ekstraktów spiruliny. Przy stężeniu spiruliny 0,1 % różnice pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą napoju z dodatkiem zielonej i niebieskiej spiruliny są porównywalne, ale zwiększanie dodatku do 0,25 oraz 0,5 % powoduje znacznie większy przyrost siły redukującej dla napoju z dodatkiem niebieskiej spiruliny w porównaniu do zielonej. Podobne obserwacje poczynili De Oliveira i wsp. [9], którzy oznaczali aktywność antyoksydacyjną testem FRAP dla napojów funkcjonalnych na bazie mleka czekoladowego z mikrokapsułkowaną zieloną spiruliną. Autorzy zaobserwowali, że zwiększanie udziału dodatku z 5 % do 8,75 % nie powodowało wzrostu wskaźnika FRAP (odpowiednio 177,28 oraz 150,82 $\mu\text{mol TE/g}$).

W otrzymanych napojach oznaczono całkowitą zawartość związków polifenolowych (tabela 2). Największą zawartością (11,65 mg GAE/g) związków polifenolowych wykazywał napój z 0,5-procentowym dodatkiem niebieskiej spiruliny, natomiast najmniejszą zawartość związków fenolowych (3,19 mg GAE/g) – napój z 0,1-procentowym dodatkiem zielonej spiruliny. W przypadku 0,5-procentowego stężenia zawartość związków polifenolowych w napoju z dodatkiem niebieskiej spiruliny była dwukrotnie wyższa niż w przypadku tego samego stężenia zielonej spiruliny. Najmniejsza zawartość polifenoli w przypadku napoju z niebieską spiruliną była porównywalna z największą zawartością polifenoli w napoju z zieloną spiruliną. Przedstawione wyniki

znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. De Oliveira i in. [9] badali właściwości mikrokapsułkowanej spiruliny jako substratu do produkcji napojów funkcjonalnych na bazie mleka czekoladowego i ustalili całkowitą zawartość związków polifenolowych w przygotowanych napojach na poziomie 602,31 oraz 683,98 mg GAE/100 g, przy udziale spiruliny odpowiednio 5 % i 8,75 %. Podobne zależności zaobserwowano w badaniach własnych, gdzie większy dodatek *Arthrospira platensis* powoduje wzrost wartości TPC.

W celu potwierdzenia właściwości izotonicznych otrzymanych napojów sprawdzono ich osmolalność. Wartość osmolalności dla samej wody kokosowej wynosiła 308 mOsm/kg H₂O, po wprowadzeniu dodatku spiruliny proporcjonalnie wzrastała. Największą osmolalnością (336 mOsm/kg H₂O) charakteryzowały się napoje z dodatkiem niebieskiej spiruliny w ilości 0,5 %, a najmniejszą (315 mOsm/kg H₂O) – napoje z 0,1-procentowym dodatkiem spiruliny zielonej. Ponadto stwierdzono zależność pomiędzy udziałem spiruliny, a wielkością osmolalności (im większy dodatek spiruliny, tym wyższa wartość), jednak uzyskane wartości zawierały się w przedziale 315 ÷ 336 mOsm/kg H₂O.



Rys. 3. Osmolalność analizowanych napojów funkcjonalnych na bazie wody kokosowej i spiruliny

Fig. 3. Osmolality of the analyzed functional drinks based on coconut water and spirulina

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$ (osobno dla napojów ze spiruliny zielonej i niebieskiej) / a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$ (separately for green and blue spirulina drinks)

Osmolalność napoju to informacja mówiąca o stężeniu substancji rozpuszczonych w jednym kilogramie rozpuszczalnika – wody. Na osmolalność w głównej mierze

wpływa zawartość węglowodanów oraz obecność chlorków, jonów sodu, wapnia, magnezu i potasu [21, 24]. Według danych literaturowych napoje można uznać za izotoniczne, jeżeli średnie wartości osmolalności mieściły się w przedziale 270 ÷ 330 mOsm/kg H₂O [24]. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wszystkie otrzymane napoje można zaliczyć do grupy napojów izotonicznych, gdyż ich wartość zawierała się w przedziale osmolalności charakterystycznej dla izotoników. Dodatek spiruliny wpływa nieznacznie na zwiększenie wartości osmolalności napojów ze względu na obecność węglowodanów oraz makro- i mikroelementów w jej składzie chemicznym.

W ocenie własnej najbardziej akceptowalne cechy organoleptyczne wykazywały napoje z 0,1-procentowym dodatkiem obu spirulin N i Z. Smak oraz zapach napojów był delikatnie wyczuwalny, jednak korzystniejszy niż wody kokosowej, przy czym intensywność barwy tych napojów zachęcała spożycia. Zwiększenie udziału dodatku do 0,25 % dla spiruliny zielonej niekorzystnie wpłynęło na cechy smakowo-zapachowe (wyczuwalny zapach alg). Napoje z dodatkiem 0,5 % spiruliny zarówno w przypadku zielonej jak i niebieskiej charakteryzowały się zbyt intensywnym zapachem i smakiem (charakterystycznym dla wodorostów) oraz zbyt intensywną, ciemną barwą.

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że niezależnie od stężenia wyższe wartości osmolalności cechują napoje z dodatkiem niebieskiej spiruliny. Ponadto stwierdzono wysoką korelację pomiędzy osmolalnością a aktywnością antyoksydacyjną ($r = 0,986$) oraz zawartością związków fenolowych ($r = 0,928$), co dodatkowo wzmacnia jakość prozdrowotną otrzymanych napojów i zwiększa ich konkurencyjność w stosunku do komercyjnych odpowiedników, zawierających w składzie szereg E-dodatków, w tym barwniki.

Wnioski

1. Zielona spirulina (*Arthrospira platensis*) charakteryzuje się intensywnym kolorem związanym z obecnością kompleksu barwników chlorofilowych, karotenoidowych i fikocyjaniny, co zostało potwierdzone na podstawie widm absorbancji dla wodnych ekstraktów. Z kolei niebieska spirulina zawiera głównie wyizolowaną z zielonej spiruliny fikocyjaninę – niebieski barwnik. Obie formy wykazują właściwości antyoksydacyjne i zawartość białka rozpuszczalnego nie mniejszą niż 35 %, przy czym obserwowano duże zróżnicowanie składu chemicznego.
2. Wzbogacenie wody kokosowej dodatkiem zielonej lub niebieskiej spiruliny (0,1 ÷ 0,25 % w/v) pozwoliło otrzymać napój o wysokim potencjale antyoksydacyjnym, podwyższonej zawartości białka i osmolalności wymaganej dla napojów izotonicznych, co pozwala zaliczyć je do grupy napojów funkcjonalnych. Napój z niebieską spiruliną wykazywał korzystniejsze cechy organoleptyczne (barwa, zapach, smak).

Literatura

- [1] Agregán R., Munekata PES., Franco D., Carballo J., Barba F.J., Lorenzo JM. Antioxidant Potential of Extracts Obtained from Macro- (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*) and Micro-Algae (*Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*). *Med. Plant. Foods*, 2018, 5, 2-33.
- [2] Arndt U. *Spirulina Chlorella AFA-ALGEN Lichtvolle Power-Nahrung für Körper und Geist*. Hans - Nietsch Verlag, 2019.
- [3] Boukrid F., Castellari M. Food and Beverages Containing Algae and Derived Ingredients Launched in the Market from 2015 to 2019: a Front-of-Pack Labeling Perspective with a Special Focus on Spain. *Foods*, 2021, 10 (1), 173.
- [4] Britton G. Functions of intact carotenoids. Birkhauser Verlag AG Natural Functions, 2008, 4, pp. 189-212.
- [5] Bueschke, M. Alternative sources of protein in human nutrition. *Zeszyty Naukowe SGGW w Warszawie-Problemy Rolnictwa Światowego* 17.3, 2017, 49-59.
- [6] Castillejo N., Martínez-Hernández GB., Goffi V., Gómez PA., Aguayo E., Artés, F., Artés-Hernández F. Natural vitamin B12 and fucose supplementation of green smoothies with edible algae and related quality changes during their shelf life. *J. Sci. Food Agri.*, 2018, 98, 2411-2421.
- [7] Castro M., Shannon E., Abu-Ghannam N. Effect of Fermentation on Enhancing the Nutraceutical Properties of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Fermentation*, 2019, 5, 28.
- [8] Chu W.-L., Lim Y.-W., Radhakrishnan A.K., Lim P.-E.. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complement. Altern. Med.* 2010, 10 (53), 1-8.
- [9] De Oliveira B., Reis IM., Souza MB., Silva Bispo E., Maciel LF., Druzian JI., Tavares PPLG., Cerqueira AO, Morte ESM, Glória MBA., Deus VL, Santana LRR. Microencapsulation of *Spirulina sp.* LEB-18 and its incorporation in chocolate milk: Properties and functional potential. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2021, 148, 111674.
- [10] Gross J. Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. Van Nostrand Reinhold, 1991.
- [11] Han P., Li J., Zhong H., Xie J., Zhang P., Lu O., Li J., Xu P., Chen P., Leng L., Zhou W. Antioxidation properties and therapeutic potentials of spirulina. *Algal Res. J.*, 2021, 55, 102240.
- [12] Jękot B., Rzewińska A., Hałaszk P., Rojowski J., Muszyńska B. Algae preparations as a source of beneficial healthy substances. *Medicina Internacia Revuo*, 2016, 27 (106), 4-10.
- [13] Jung F., Krüger-Genge A., Waldeck P., Küpper J.-H. *Spirulina platensis*, a super food? *J. Cellular Biotechnol.*, 2019, 5 (1), 43-54.
- [14] Karwowska K., Skotnicka M., Pieszko M. Substancje bioaktywne występujące w „zielonych” suplementach diety. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2020, 3, 129-136.
- [15] Kępińska-Pacelik J., Biel W. *Spirulina* – dlaczego określana jest mianem super food? *Przem. Spoż.* 2022, 76, 10-16.
- [16] Lafarga T., Fernández-Sevilla JM., González-López C., Acién-Fernández FG. *Spirulina* for the food and functional food industries. *Food Res. Int.*, 2020, 137, 109356.
- [17] Mehmood AMMT., Iyer AB., Arif S., Junaid M., Khan RS., Nazir W., Khalid N. Whey Protein-Based Functional Energy Drinks Formulation and Characterization. *Sports and Energy Drinks*, 2019, 10, 161-181.
- [18] Niccolai A., Bažec K., Rodolfi L. Lactic Acid Fermentation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) in a Vegetal Soybean Drink for Developing New Functional Lactose-Free Beverages. *Front. Microbiol.*, 2020, 11, 560684.
- [19] Porra RJ., Thompson WA., Kriedemann PE. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: veri-

- fication of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophysic. Acta Bioener.*, 1989, 975 (3), 384-394.
- [20] Ratha SK., Prasanna R. Bioprospecting microalgae as potential sources of "Green Energy"—challenges and perspectives. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2012, 48 (2), 109-125.
- [21] Rowlands S., Kopetschny BH., Badenhorst CE. The Hydrating Effects of Hypertonic, Isotonic and Hypotonic Sports Drinks and Waters on Central Hydration During Continuous Exercise: a Systematic Meta-Analysis and Perspective. *Sports Med.*, 2021, 34716905.
- [22] Saefurahman, G.; Rahman, A.A.; Hidayatulloh, S.; Farobie, O.; Abidin, Z. Continuous extraction of *Spirulina platensis* biopigments using different extraction sequences. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2021, 749, 1-8.
- [23] Stanic-Vucinic D., Minic S., Milan R., Cirkovic Velickovic NT. *Spirulina* Phycobiliproteins as Food Components and Complements. *IntechOpen*, 2018, 10, 5772.
- [24] Stasiuk E., Przybyłowski P. Elektrochemiczne wskaźniki jakości w ocenie napojów izotonicznych. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2015, 96 (4), 827-829.
- [25] Takyar T., Babak M., Khajavi SH., Reza S. Evaluation of antioxidant properties of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* and their application in order to extend the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2018, 100, 244-249.

SPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) AS A COMPONENT OF FUNCTIONAL DRINKS

S u m m a r y

Background. *Spirulina* is categorized as so-called super foods, the properties of which are supposed to have a beneficial effect on the human body, and is used as a natural food coloring additive. The aim of the study was to evaluate the antioxidant and osmotic properties of beverages prepared using various forms of commercially available *spirulina* and coconut water as a natural isotonic solvent. Based on the determined absorption spectra and antioxidant properties of *spirulina* extracts (three batches of green and two batches of blue *spirulina*), samples with the highest activity were selected for the next stage of the study. Beverages were made using coconut water (control sample) and green or blue *spirulina* with increasing additions of 0.1, 0.25 and 0.5 % w/v (seven beverages in total). The polyphenol content, antioxidant (DPPH[•]) and osmotic properties of the produced beverages were compared.

Results and conclusion. It was shown that drinks based on blue *spirulina* had higher protein, polyphenol content as well as antioxidant activity, proportional to the share of additive used, than drinks with green *spirulina*. The osmolality of all drinks ranged from 315 to 336 mOsm/kg H₂O, which meets the requirements for isotonic drinks. Drinks based on blue *spirulina* were characterized by an intense blue color and better organoleptic characteristics compared to green *spirulina* and coconut water, however, the addition of 0.5% adversely affected the organoleptic qualities of the drink. The beverages produced can be categorized as functional beverages, well hydrating the body and additionally enriched with valuable nutrients.

Key words: *Arthrospira platensis*, *spirulina*, phycocyanin, isotonic drink, antioxidant activity ☒

AGNIESZKA RYZNAR-LUTY, KRZYSZTOF LUTOSŁAWSKI

OCENA FIZYKOCHEMICZNA I SENSORYCZNA SOKU POMARAŃCZOWEGO WZBOGACONEGO SOKIEM Z ROKITNIKA LUB PIGWY

Streszczenie

Wprowadzenie. Sok pomarańczowy charakteryzuje się wysoką akceptowalnością smaku wśród soków oferowanych na światowym rynku. Wydaje się być zatem bardzo dobrą matrycą do przenoszenia składników funkcjonalnych. Zarówno owoce rokitnika, jak i pigwy są bogatym źródłem składników prozdrowotnych. Włączenie ich jako składnika innych produktów spożywczych w celu otrzymania żywności funkcjonalnej może być innowacyjnym podejściem w przetwórstwie. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dodatku soku z pigwy lub rokitnika do soku pomarańczowego na jego wybrane cechy sensoryczne oraz parametry fizykochemiczne. Materiał badany stanowiły soki dwuowocowe przygotowane przez zmieszanie soku pomarańczowego oraz soku z pigwy lub rokitnika w stosunku objętościowym 4:1. W sokach oznaczono poziom ekstraktu ogólnego, pH, kwasowości ogólnej, kwasu L-askorbinowego i aktywności przeciwutleniającej. Ponadto przeprowadzono oznaczenie barwy i dokonano analizy sensorycznej.

Wyniki i wnioski. Sok pomarańczowy wzbogacony sokiem z rokitnika charakteryzował się zbliżoną aktywnością przeciwrodnikową w porównaniu do soku pomarańczowego, podczas gdy zawartość w nim kwasu L-askorbinowego uległa podwyższeniu. Otrzymany sok nie uzyskał jednak akceptacji smakowo – zapachowej panelu sensorycznego. Dodatek soku z pigwy do soku pomarańczowego nie zmienił w istotny sposób zawartości kwasu L-askorbinowego, ale wpłynął korzystnie na wartość potencjału przeciwutleniającego. Ogólna jakość sensoryczna uzyskanego soku dwuowocowego była niższa w porównaniu z oceną czystego soku pomarańczowego, jednak odczuwane różnice nie przekroczyły 1,4 pkt. Sok z pigwy może stanowić cenny komponent soku na bazie soku z pomarańczy.

Słowa kluczowe: sok pomarańczowy, sok z rokitnika, sok z pigwy, związki prozdrowotne, ocena sensoryczna

Wprowadzenie

Podstawowe źródło makro- i mikrośladników niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu powinna stanowić zbilansowana dieta. Obserwuje się jednak, że w krajach rozwiniętych podstawą codziennej diety jest żywność wysokoprzetworzona, która w trakcie produkcji traci wiele składników odżywczych [17]. Z uwagi na zapotrzebowanie konsumentów na naturalne źródło witamin, składników mineralnych oraz innych związków bioaktywnych w obszarze zainteresowań przemysłu spożywczego znajdują się surowce roślinne zasobne w wyżej wymienione składniki. Do surowców takich można zaliczyć między innymi owoce pigwy (*Cydonia oblonga*) i rokitnika (*Hippophae rhamnoides*).

Ze względu na twarde mięsz oraz cierpki i kwaśny smak owoce pigwy nie są cenione w stanie świeżym. Wysoka zawartość kwasu jabłkowego w surowych owocach powoduje, że nie zaleca się spożywania ich bez wcześniejszej obróbki [1]. Zyskują jednak coraz większe zainteresowanie ze względu na zawartość różnych związków funkcjonalnych i fitochemicznych, które mogą wzbogacić dietę w niezbędne witaminy, składniki mineralne i antyoksydacyjne [4]. Jagody rokitnika mają właściwości immunomodulujące, kardioprotekcyjne i antyaterogenne. Ponadto wykazują działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, antyradiacyjne, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, antykancerogenne, hepatoprotekcyjne i lecznicze na ostre i przewlekłe rany oraz choroby skóry tj. atopowe zapalenie skóry i rumień. W owocach tych obok głównych składników, takich jak białka i aminokwasy, związki lipidowe i kwasy tłuszczowe, sacharydy i polisacharydy oraz składniki mineralne, obecne są antyoksydanty lipofilowe i hydrofilowe, a także witaminy i prowitaminy [4]. Owoce pigwy stanowią dobre źródło związków prozdrowotnych odpowiedzialnych za ich właściwości antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne i przeciwrzodowe. Są one zasobne w kwasy organiczne, aminokwasy i polifenole [1].

Owoce wyżej wymienionych roślin charakteryzują się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym, jak również dużą zawartością witaminy C [1, 4]. Według danych literaturowych zawartość tej witaminy w jagodach rokitnika wynosi od 2,5 do 300 mg/100 g owocu, w zależności od gatunku [4], natomiast w owocach pigwy – ok. 15 mg/100 g [1]. W związku z tym owoce obu gatunków mogą stanowić dla przemysłu spożywczego cenny surowiec umożliwiający otrzymanie żywności funkcjonalnej.

Z obu rodzajów owoców może być produkowany sok, który ze względu na specyficzne cechy sensoryczne jest niechętnie spożywany przez konsumentów w czystej postaci. Niemniej jednak zdaniem autorów opracowania owoce te mogą stanowić cenny dodatek do innego soku owocowego bez znacznego wpływu na jego cechy organoleptyczne. Spośród oferowanych na rynku soków pitnych Europejczycy zdecydowanie preferują sok pomarańczowy. W roku 2021 sok ten stanowił 36,5 % zakupów dokonywanych przez konsumentów w Europie, natomiast w Polsce stanowił on 24,7 % [15].

Duże zapotrzebowanie rynku na sok pomarańczowy wynika z jego wysokich walorów smakowych oraz dość dużej zawartości składników prozdrowotnych m.in. witaminy C, potasu, tiaminy, folianów, flawonoidów i przeciwutleniaczy. Kluczowi producenci soku pomarańczowego skłaniają się ku zwiększeniu trwałości i wartości odżywczej tego produktu [14]. Z uwagi na fakt, że charakteryzuje się on wysoką akceptowalnością smaku wśród soków owocowych, wydaje się być bardzo dobrą matrycą do przenoszenia składników funkcjonalnych. Od wielu lat na rynek wprowadzane są soki owocowe z dodatkiem np.: witamin, głównie A, C, B i E, oraz wyciągów z roślin leczniczych takich jak: żeń-szeń czy jeżówka. Produkowane są również soki wieloskładnikowe, komponowane z soków różnych owoców i warzyw. Zabiegi te mają na celu otrzymanie produktu bogatego w witaminy i fitozwiązki [6]. Przykładem może być sok pomarańczowy wzbogacony wapniem i fortyfikowany witaminą D [3]. Cytowani Autorzy w wyniku przeprowadzonych badań stwierdzili, że biodostępność witaminy D w soku pomarańczowym jest taka sama, jak w dostępnych w handlu suplementach diety. Inną propozycją może być wzbogacanie soku z czerwonej pomarańczy związkami fenolowymi odzyskanymi z odpadu otrzymanego po tłoczeniu oliwy z oliwek [7].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dodatku soku z pigwy lub rokitnika do soku pomarańczowego na jego wybrane cechy sensoryczne oraz parametry fizykochemiczne.

Materialy i metody badań

Material badany

Material badany stanowiły soki pomarańczowe oraz pomarańczowe z dodatkiem soku z pigwy lub rokitnika, w stosunku objętościowym 4:1. Zarówno sok pomarańczowy, jak i soki z pigwy i rokitnika pochodziły z oferty handlowej. Sok pomarańczowy zakupiono w 1 dm³ opakowaniach typu Tetra Pak w początkowym okresie jego przydatności do spożycia. Według deklaracji producenta był to sok odtworzony z koncentratu zawierający cząsteczki miąższu. Zarówno sok z pigwy, jak i z rokitnika były sokami bezpośrednimi, 100-procentowymi i pasteryzowanymi, sprzedawanymi w szklanych opakowaniach o pojemności 490 cm³. Soki dwuowocowe na potrzeby przeprowadzenia doświadczenia przygotowano bezpośrednio po otwarciu opakowań. Zmieszano je w szklanym naczyniu z zastosowaniem plastikowego mieszadła mechanicznego. Nie były pasteryzowane po zmieszaniu. Parametry fizykochemiczne soków wykorzystanych w badaniach przedstawiono w tabeli 1.

Ocena fizykochemiczna

Do oznaczania poziomu ekstraktu ogólnego soków wykorzystano refraktometr Abbyego (Carl Zeiss, Niemcy). Pomiary pH wykonano za pomocą pH-metru CP-505 (ELMETRON, Polska). Kwasowość ogólną oznaczono metodą miareczkową, a wyniki

przedstawiano w przeliczeniu na g kwasu cytrynowego. Aktywność przeciwutleniającą oznaczono metodą z wykorzystaniem rodnika DPPH[•] i wyrażono w μmol Troloksu [11]. Zawartość kwasu L-askorbinowego oznaczono metodą Tillmansa [16]. Barwę próbek mierzono za pomocą trójkromatycznego kolorymetru CR-310 (Konica Minolta, Japonia) i zaprezentowano w przestrzeni barw CIE $L^*a^*b^*$ za pomocą trzech składowych, tj. luminancji (L^*) w zakresie od 0 (kolor czarny) do 100 (kolor biały), parametru a^* , określającego udział barwy od zielonej (<0) do czerwonej (>0) oraz parametru b^* , określającego udział barwy od niebieskiej (<0) do żółtej (>0). Wszystkie analizy wykonane zostały w trzech powtórzeniach. Różnicę barw ΔE obliczono według wzoru:

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

gdzie ΔL^* , Δa^* , Δb^* : różnice wartości L^* , a^* , i b^* między barwą soku mieszanego i barwą soku pomarańczowego.

Ocena sensoryczna

Ocenę sensoryczną soków: pomarańczowego (POM), pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy (POM-PIG) i pomarańczowego z dodatkiem soku z rokitnika (POM-ROK) wykonano metodą *QDA* (*Quantitative Descriptive Analysis*), polegającą na ilościowej ocenie cech szczegółowych: konsystencja, barwa, zapach, smak oraz smakowitość (ogólne wrażenie zapachowo-smakowo-czuciowe), które są elementami składowymi cech ogólnych produktu. Współczynniki ważkości dla poszczególnych cech wynosiły odpowiednio 0,1; 0,15; 0,15; 0,25 oraz 0,35. Metodą profilowania sensorycznego określono intensywności odczuwalnych smaków, takich jak: pomarańczowy, kwaśny, słodki, gorzki, cierpki i umami. W obu przypadkach wykorzystano skalę 5 kategorii, w których określenia zależne były od badanej cechy [2].

Wszystkie przygotowane do badań soki schłodzono do temperatury 8 °C. Na stanowiskach do oceny sensorycznej, na białych arkuszach papieru, przygotowano próbki soków o objętości 40 cm³ w przezroczystych, losowo ponumerowanych, plastikowych kubkach o pojemności 50 cm³. Dodatkowo na każdym stanowisku badawczym do dyspozycji była woda. Oceny sensorycznej poszczególnych próbek soków dokonywano przy udziale 12-osobowego zespołu o wymaganej wrażliwości sensorycznej ujętej w normie PN-ISO 8586:2014 [13]. Stanowiska do oceny oświetlone były światłem dziennym. Pomieszczenie, w którym dokonywano oceny, było przewietrzane i wolne od zapachów obcych. Temperatura wynosiła w nim 23 °C.

Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w programie Statistica 13.3. Istotność różnic między grupami określano w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA oraz test post-hoc Duncana ($p \leq 0,05$).

Wyniki

Ocena fizykochemiczna

Wyniki oznaczeń wybranych parametrów fizykochemicznych analizowanych soków, tj. soku pomarańczowego (POM), soku z pigwy (PIG), soku z rokitnika (ROK), soku z dodatkiem soku z pigwy (POM-PIG) lub rokitnika (POM-ROK), przedstawiono w tabeli 1. Dodatek soku z pigwy do soku pomarańczowego nie wpłynął w istotny sposób na zawartość ekstraktu ogólnego i kwasu L-askorbinowego w otrzymanym produkcie. Wartość pH soku POM-PIG była nieznacznie niższa od wartości tego parametru dla soku pomarańczowego. Odnotowano jednocześnie nieznaczne obniżenie kwasowości ogólnej soku POM-PIG, co było spowodowane niższą wartością tego parametru w soku z pigwy ($7,19 \text{ g/dm}^3$) niż w soku pomarańczowym ($8,81 \text{ g/dm}^3$) (tab. 1). Aktywność przeciwutleniająca soku POM-PIG, oznaczana wobec rodnika DPPH[•], wzrosła o 32,6 % w porównaniu do wartości tego parametru dla soku pomarańczowego. Zdolność do zmiatania wolnych rodników wyrażona jako % redukcji rodnika DPPH[•] zwiększyła się z 20,6 % (POM) do 29,9 % (POM-PIG). Otrzymany sok dwuowocowy charakteryzował się zbliżonymi wartościami parametrów L* oraz b*, w odniesieniu do soku pomarańczowego. Obniżeniu uległ natomiast parametr a*, co świadczy o zmniejszeniu się udziału barwy czerwonej (tab. 1). Wyniki przeprowadzonych pomiarów sugerują, że różnicę pomiędzy barwami omawianych soków dostrzeże nawet niedoświadczony obserwator (w przestrzeni CIE L*a*b*, $\Delta E = 2,5$).

Wzbogacenie soku pomarańczowego sokiem z rokitnika zaowocowało wzrostem ilości kwasu askorbinowego o $18,7 \text{ mg/100 cm}^3$ soku. Zaobserwowano także wzrost kwasowości ogólnej i obniżenie wartości pH soku POM-ROK w porównaniu do POM. W soku POM-ROK obniżeniu uległa zawartość ekstraktu ogólnego, jak również aktywność przeciwutleniająca zmierzona względem rodnika DPPH[•]. Różnica pomiędzy wartościami ostatniego z wymienionych parametrów nie była jednak istotna statystycznie. Ponadto odnotowano obniżenie wartości parametrów L* i b* oraz wzrost wartości parametru a*, w porównaniu do POM. Świadczy to o pogorszeniu luminacji oraz wzroście udziału barwy czerwonej i niebieskiej. Odnotowane różnice pozwalają stwierdzić, że barwa soku pomarańczowego wzbogaconego sokiem z rokitnika wyraźnie różni się od barwy soku pomarańczowego (w przestrzeni CIE L*a*b* $\Delta E = 9,6$).

Ocena sensoryczna

Wyniki sensorycznej oceny jakości badanych soków przedstawiono na rysunku 1. Dodatek soku z rokitnika, jak również z pigwy, do soku pomarańczowego miał znaczący wpływ na ocenę większości wyróżników jakościowych uzyskanego produktu (za wyjątkiem oceny barwy w przypadku soku pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy).

Tabela 1. Parametry fizykochemiczne soku pomarańczowego (POM), pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy (POM-PIG), pomarańczowego z dodatkiem soku z rokitnika (POM-ROK), soku z pigwy (PIG) oraz soku z rokitnika (ROK)

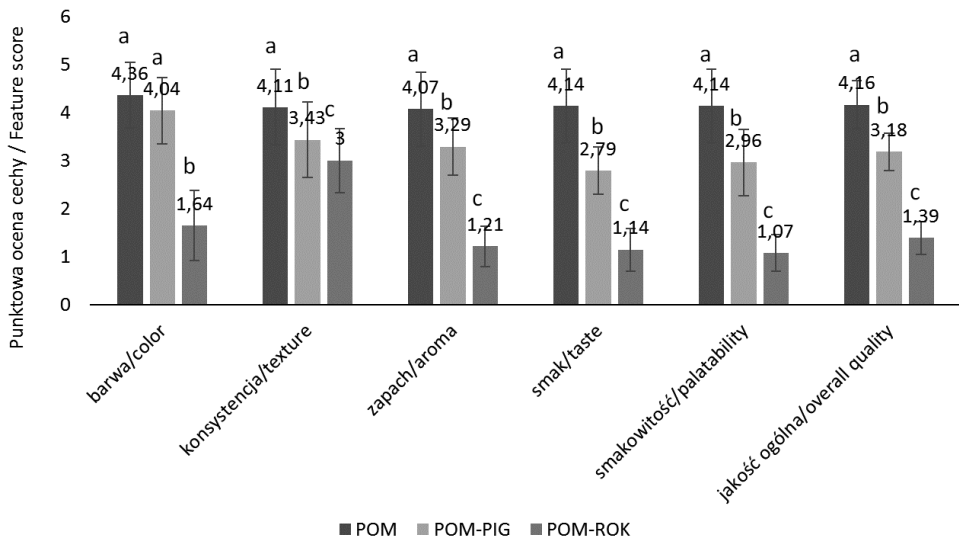
Table 1. Physicochemical parameters of orange juice (POM), orange juice with quince juice (POM-PIG), orange juice with sea buckthorn juice (POM-ROK), quince juice (PIG) and sea buckthorn juice (ROK)

Parametr / Parameter	Próba / Sample				
	POM	POM-PIG	POM-ROK	PIG	ROK
Ekstrakt ogólny [°Brx] / Total extract [°Brx]	9,80 ^a ± 0,10	9,87 ^a ± 0,15	9,03 ^b ± 0,06	9,47 ± 0,06	9,47 ± 0,15
pH	3,72 ^a ± 0,01	3,68 ^b ± 0,02	3,31 ^c ± 0,02	3,46 ± 0,14	2,72 ± 0,01
Kwasowość ogólna w przeliczeniu na kwas cytrynowy [g/ dm ³] Total acidity per citric acid [g/ dm ³]	8,81 ^a ± 0,23	7,69 ^b ± 0,14	11,31 ^c ± 0,11	7,19 ± 0,00	12,78 ± 0,24
Zawartość kwasu L-askorbinowego [mg/100 dm ³] L-ascorbic acid content [mg/100 dm ³]	35,5 ^a ± 1,12	34,8 ^a ± 0,90	54,2 ^b ± 1,82	29,8 ± 1,31	62,9 ± 1,52
DPPH* [µmol/ dm ³]	624 ^a ± 14	828 ^b ± 49	598 ^a ± 49	2338 ± 95	1623 ± 90
% DPPH*	20,6 ^a ± 0,6	29,9 ^b ± 2,2	19,4 ^a ± 2,3	54,1 ± 2,1	38,4 ± 2,0
Barwa / Color	L*	49,2 ^a ± 0,0	50,9 ^b ± 0,0	43,0 ^c ± 0,1	52,3 ± 0,0
	a*	+3,6 ^a ± 0,0	+1,8 ^b ± 0,0	+8,0 ^c ± 0,1	+11,6 ± 0,0
	b*	+29,6 ^a ± 0,0	+29,4 ^b ± 0,0	+23,6 ^c ± 0,1	+31,7 ± 0,0

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – różnice pomiędzy wynikami dla soku pomarańczowego i sokami dwuskładnikowymi oznaczone tą samą literą w tym samym wierszu są istotne statystycznie (p ≤ 0,05); a, b, c - differences between results for orange juice and two-component juices marked with the same letter in the same row are statistically insignificant (p ≤ 0.05)

Dodatek soku z pigwy do soku pomarańczowego wpłynął najbardziej niekorzystnie na ocenę smakowitości i smaku otrzymanego produktu. Smakowitość soku POM-PIG oceniona została na poziomie średnim, a smak jako mniej intensywny od smaku soku pomarańczowego, ale zharmonizowany. Uśredniony wynik oceny tych parametrów był odpowiednio o 1,2 i 1,4 punktu niższy od średniego wyniku uzyskanego dla soku pomarańczowego. Konsystencja oceniona została na poziomie wyższym niż dostateczny, jednak niższym niż dobry. Zapach został oceniony jako wolny od zapachów obcych, a w kilku przypadkach jako aromatyczny i zharmonizowany. Średnia ocena tych dwóch ostatnich parametrów była jedynie o 16,5 % oraz 19,2 % niższa od oceny soku pomarańczowego. Jakość ogólna soku pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy została oceniona na poziomie średnim i była niższa od jakości ogólnej soku pomarańczowego o 1 punkt (rys. 1).



Rys.1. Wyniki oceny sensorycznej barwy, konsystencji, zapachu, smaku, smakowitości oraz jakości ogólna soku pomarańczowego (POM) oraz soku pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy (POM-PIG) i soku pomarańczowego z dodatkiem soku z rokitnika (POM-ROK)

Fig. 1. Results of sensory evaluation of color, texture, aroma, taste, palatability and overall quality of orange juice (POM) and orange juice with quince juice (POM-PIG) and orange juice with sea buckthorn juice (POM-ROK)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

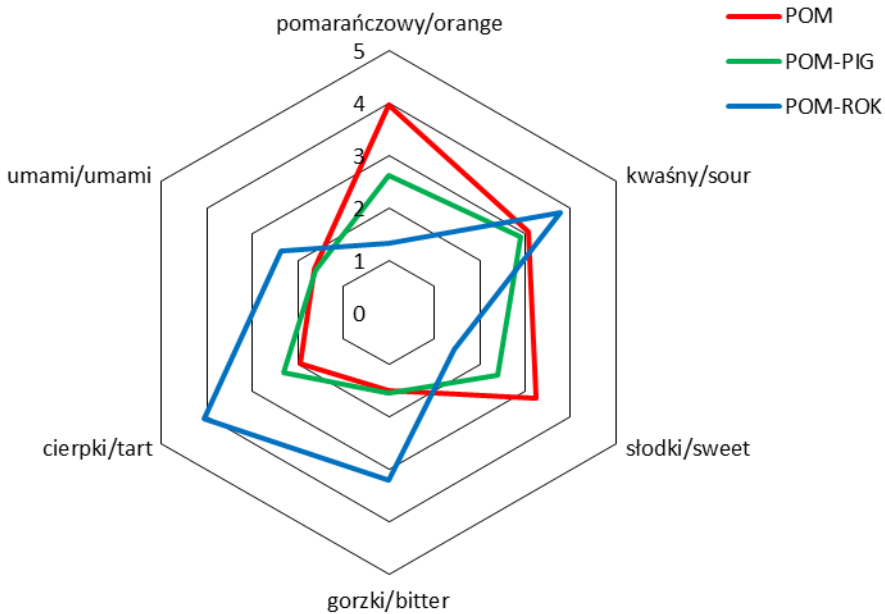
a, b, c – różnice pomiędzy wynikami oznaczonymi tą samą literą były nieistotne statystycznie $p \leq 0,05$;
a, b, c – differences between results marked with the same letter are statistically insignificant ($p \leq 0.05$)

Dodatek soku z rokitnika do soku pomarańczowego pogorszył znacząco sensoryczne cechy jakościowe otrzymanego produktu. Jedynie konsystencja soku pomarańczowego z tym dodatkiem oceniona została na poziomie wyższym niż dostateczny.

Wszystkie pozostałe cechy uzyskały niskie noty. Barwa i zapach określone zostały jako niedostateczne, silnie odbiegające od barwy i zapachu pomarańczy. Smak był mocno zmieniony, a nawet obcy, natomiast podczas oceny smakowitości oceniający nie wyczuwali smaku pomarańczy. W konsekwencji jakość ogólna tego produktu była o 66,6% niższa niż soku pomarańczowego (rys. 1).

Profil smaku soku o najwyższej jakości ogólnej (POM) charakteryzował się intensywnym smakiem pomarańczy, średnio odczuwalnym smakiem słodkim i kwaśnym, a także słabo odczuwalnym smakiem cierpkim oraz gorzkim. Dodatek do niego soku z pigwy spowodował obniżenie odczucia smaku pomarańczowego i słodkiego. Nie wpłynął w istotny sposób na intensywność smaku kwaśnego, gorzkiego i umami, jednak w nieznacznym stopniu wzmógł odczucie smaku cierpkiego, które było określane jako średnie (rys. 2).

Sok pomarańczowy z dodatkiem soku z rokitnika, którego jakość ogólna oceniona została na najniższym poziomie, odznaczał się intensywnym cierpkim i kwaśnym smakiem, jak również średnio wyczuwalnym smakiem gorzkim i umami. Smak pomarańczy w otrzymanym soku dwuowocowym był prawie niewyczuwalny (rys. 2).



Rys. 2. Profil sensoryczny smaku soku pomarańczowego (POM), soku pomarańczowego z dodatkiem soku z pigwy (POM-PIG) i soku pomarańczowego z dodatkiem soku z rokitnika (POM-ROK).

Fig. 2. Sensory flavor profile of orange juice (POM), orange juice with quince juice (POM-PIG) and orange juice with sea buckthorn juice (POM-ROK).

Dyskusja

W wyniku wzbogacenia soku pomarańczowego sokiem z pigwy, charakteryzującym się dużo wyższą aktywnością przeciwutleniającą (tab. 1), otrzymano sok o wyższej aktywności przeciwrodnikowej, w porównaniu do soku bazowego. Efektu takiego nie zaobserwowano w przypadku zastosowania soku z rokitnika, pomimo istotnie wyższej od soku pomarańczowego aktywności przeciwutleniającej tego produktu (tab. 1). Jest to prawdopodobnie związane z niestabilnością oraz współdziałaniem pomiędzy związkami zawartymi w sokach. Z danych literaturowych wynika, że poprawę statusu antyoksydacyjnego soku pomarańczowego osiągnięto w wyniku procesu jego fermentacji z wykorzystaniem *Pichia kluyveri*. Udowodniono, że proces ten zwiększa biodostępność melatoniny, której cząsteczki wykazują silne działanie przeciwutleniające. Jednocześnie obserwowano znaczne obniżenie zawartości kwasu askorbinowego w otrzymanym produkcie, z 423 do 197 mg/dm³ [5]. Znacznie wyższą aktywność przeciwutleniającą, w porównaniu do produktu wyjściowego, wykazywał sok pomarańczowy wzbogacony białkiem orzecha ziemnego. Jednocześnie odnotowano poprawę parametrów fizykochemicznych i właściwości przeciwcukrzycowych otrzymanego napoju w porównaniu do czystego soku pomarańczowego. Ocena organoleptyczna uzyskanych produktów nie odbiegała wyraźnie od oceny czystego soku pomarańczowego [12]. Obiecujące wyniki uzyskano w badaniach nad wykorzystaniem związków fenolowych pozyskanych ze ścieków z tłoczni oliwek do fortyfikacji soku z czerwonej pomarańczy. Smak i zapach soku z dodatkiem uzyskanego koncentratu, w stosunku większym niż 2/250 v/v, ocenione zostały jako odbiegające od smaku i zapachu czystego soku. Mniejsza ilość związków fenolowych nie pogarszała jakości sensorycznej soku pomarańczowego, podczas gdy zawartość związków fenolowych w napoju wzrosła o ok. 16 % [7].

Wykorzystany w badaniach Osungbade i wsp. [12] sok pomarańczowy charakteryzował się wyższą wartością pH (4,58) w porównaniu do soku pomarańczowego analizowanego w ramach niniejszej pracy (3,72). Dodatek zarówno izolatu, jak i hydrolicyzatu białkowego, spowodował nieznaczne obniżenie wartości tego parametru [12]. Analogiczny efekt uzyskano w efekcie fortyfikacji soku pomarańczowego sokiem zarówno z pigwy, jak i z rokitnika (tab. 1). Podobnie jak dwuskładnikowe soki zawierające w swoim składzie sok pomarańczowy i sok z rokitnika, sok pomarańczowy wzbogacony białkami orzecha charakteryzował się wyższą kwasowością w porównaniu do soku bazowego. Różnice pomiędzy sokiem pomarańczowym, a sokami dwuowocowymi badanymi w niniejszej pracy (tab. 1), w porównaniu do różnic odnotowanych pomiędzy sokiem pomarańczowym, a napojami uzyskanymi w ostatniej z cytowanych prac, były jednak mniejsze [12]. Obniżenie wartości pH i jednoczesny wzrost kwasowości soku pomarańczowego wzbogaconego sokiem z rokitnika (tab. 1) niewątpliwie znalazły odzwierciedlenie w ocenie sensorycznej tego soku (rys. 1). Panel oceniający

wskazał w tym przypadku wyraźny wzrost odczuwania zarówno smaku kwaśnego, jak i cierpkiego. Sok z pigwy nie miał aż tak znacznego wpływu na omawiane parametry (rys. 2).

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano soki bogate w związki prozdrowotne, charakteryzujące się barwą zbliżoną do barwy pomarańczy. W przypadku soku dwuowocowego uzyskanego przez zmieszanie soku z pomarańczy z sokiem z pigwy zarówno ocena fizykochemiczna, jak i organoleptyczna nie wykazały wyraźnego wpływu na barwę porównywanych produktów. Niekorzystna zmiana barwy soku pomarańczowego wywołana dodatkiem do niego soku z rokitnika odnotowana w ocenie organoleptycznej potwierdzona została podczas pomiarów kolorymetrycznych. Dobór surowca roślinnego jest w tym przypadku istotny ze względu na fakt, iż wysoką aktywnością przeciwutleniającą charakteryzują się w głównej mierze owoce ciemno zabarwione, np. czarna porzeczka, aronia, borówki czy też jeżyny [9, 10].

Niekorzystny wpływ dodatków w postaci ekstraktów z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty na jakość sensoryczną nektarów i napojów z czarnej porzeczki odnotowali Łysoniewska i wsp. [8]. Dodatki te spowodowały zmniejszenie odczuwania zapachu porzeczkowego na rzecz zapachu obcego i ostrego, a także wzrost intensywności odczuwania smaku kwaśnego, obcego i cierpkiego [8]. Podobny efekt obserwowano w przypadku oceny organoleptycznej soku dwuowocowego, w którym wykorzystano sok z rokitnika. Sok ten charakteryzował się wyraźniej odczuwanym smakiem kwaśnym, cierpkim, gorzkim oraz umami. Znacznie mniejszy wpływ zarówno na smak, jak i na zapach soku pomarańczowego miał dodatek soku z pigwy, który zmniejszył wprawdzie odczucie smaku pomarańczowego i słodkiego, jednak nie zintensyfikował smaku cierpkiego, gorzkiego oraz umami (rys. 1 i 2).

Wnioski

1. Sok pomarańczowy wzbogacony sokiem z rokitnika charakteryzował się zbliżoną aktywnością przeciwrodnikową, w porównaniu do soku pomarańczowego, podczas gdy zawartość w nim kwasu askorbinowego uległa zwiększeniu. Sok z rokitnika negatywnie wpłynął na jakość sensoryczną otrzymanego soku dwuowocowego w odniesieniu do soku bazowego. Wszystkie oceniane cechy uzyskały noty wskazujące na ich zdecydowanie niekorzystną zmianę. Produkt ten nie uzyskał akceptacji smakowo-zapachowej wśród osób oceniających.
2. Dodatek soku z pigwy do soku pomarańczowego nie spowodował istotnej zmiany zawartości kwasu L-askorbinowego w uzyskanym soku w porównaniu do soku pomarańczowego. Wpłynął natomiast korzystnie na wartość potencjału przeciwutleniającego. Jakość sensoryczna uzyskanego soku dwuowocowego była niższa w porównaniu z oceną czystego soku pomarańczowego, jednak odczuwane różnice nie osiągnęły wysokich wartości. Sok z pigwy może stanowić bogaty w związki

prozdrowotne komponent soku na bazie soku z pomarańczy. W kolejnych etapach badań należy jednak poszukiwać optymalnego składu takiego produktu, aby uzyskać maksymalny wzrost ilości związków funkcjonalnych przy możliwie najmniejszej zmianie cech organoleptycznych.

Praca finansowana z subwencji MEiN przeznaczonej na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wydziału Inżynierii Produkcji Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu.

Literatura

- [1] Al-Zughbi I., Krayem M.: Quince fruit *Cydonia oblonga* Mill nutritional composition, antioxidative properties, health benefits and consumers preferences towards some industrial quince products: A review. *Food Chem.*, 2022, 393, 133362.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Wyd II. Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków 2014.
- [3] Biancuzzo R. M., Young A., Bibuld D., Cai M. H., Winter M. R., Klein E. K., Ameri A., Reitz R., Salameh W., Chen T. C., Holick M. F.: Fortification of orange juice with vitamin D2 or vitamin D3 is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010, 91 (6), 1621-162.
- [4] Ciesarová Z., Murkovic M., Cejpek K., Kreps F., Tobolková B., Koplík R., Belajová E., Kukurová K., Daško L., Panovská Z., Revenco D., Burčová, Z.: Why is sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) so exceptional? A review. *Food Res. Int.*, 2020, 133, 109170.
- [5] Cruz-Chamorro I., Santos-Sánchez G., Álvarez-Sánchez N., Martín-Prada L., Cerrillo I., Ortega M. A., Escudero-López B., Martín F., Isabel Álvarez-Ríos A., Carrillo-Vico A., Fernández-Pachón, M. S.: Alcoholic fermentation with *Pichia kluyveri* could improve the melatonin bioavailability of orange juice. *J. Funct. Foods*, 2022, 99, 0-7.
- [6] Czapski J.: Wykorzystanie owoców i warzyw w produkcji żywności funkcjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 1999, 4 (21), 90-101.
- [7] Foti P., Occhipinti P. S., Romeo F. V., Timpanaro N., Musumeci T., Randazzo C. L., Caggia C.: Phenols recovered from olive mill wastewater as natural booster to fortify blood orange juice. *Food Chem.*, 2022, 393, 133428.
- [8] Łysoniewska E., Kalisz S., Mitek M.: Jakość sensoryczna nektarów i napojów z czarnej porzeczki wzbogaconych ekstraktami z jeżówki purpurowej oraz zielonej herbaty. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2011, 6 (79), 167-176.
- [9] Nowak A., Zielonka J., Turek M., Klimowicz A., Cywilizacyjnych W. P. C., Piotrowska A.: Rola i Właściwości Lecznicze Aronii Czarnoowocowej. *Postępy Fitoter.*, 2018, 2, 10–17.
- [10] Olędzki R.: Potencjał antyoksydacyjny owoców i warzyw oraz jego wpływ na zdrowie człowieka. *Nauk. Inżynierskie i Technol.*, 2012, 1 (4), 44-54.
- [11] Olędzki R., Lutosławski K., Nowicka P., Wojdyło A., Harasym J.: Non-Commercial Grapevines Hybrids Fruits as a Novel Food of High Antioxidant Activity. *Foods*, 2022, 11 (15), 2216.
- [12] Osungbade O. R., Ikujenlola A. V., Gbadamosi S. O.: Influence of Kersting's (*Kerstingiella geocarpa*) groundnut proteins on the physicochemical, bioactive properties and storage stability of orange juice. *Heliyon*, 2021, 7 (2), e06246.


- [13] Polska Norma PN-ISO 8586:2014. Analiza sensoryczna - Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.
- [14] Roshan D.: Orange Juice Market Product Type (Frozen Concentrated Orange Juice, Not From Concentrate, Canned Orange Juice, Fresh-Squeezed Orange juice, Dehydrated Orange Juice , Others) Packaging (Tetra Pak, PP Material Bottle, Metal Can, Others) Distributio. Dostęp w internecie [28.04.2023]: <https://www.alliedmarketresearch.com/orange-juice-market-A11038>
- [15] Szczepaniak I., Nosecka B.: Sektor sokowniczy w Polsce. Przem. Spożywczy, 2022. 76 (6), 4-9.
- [16] Szlyk E., Cichosz M., Filipiak-Szok A., Jastrzębska A., Kurzawa M.: Ćwiczenia laboratoryjne z analizy żywności. Wyd. Nauk. UMK, Toruń 2015.
- [17] Urbaniak S., Kaźmierczak-Barańska J., Karwowski B. T.: Rokitnik zwyczajny (*Hippophaë rhamnoides* L.) jako skarbnica witaminy C. Postępy Biochem., 2019, 65 (3), 212-216.

PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY EVALUATION OF ORANGE JUICE ENRICHED WITH SEA BUCKTHORN OR QUINCE JUICE

S u m m a r y

Background. Orange juice has high taste acceptability among juices offered on the global market. Therefore, it appears to be a very good matrix for transferring functional ingredients. Both sea buckthorn and quince fruits are rich sources of health-promoting ingredients. Incorporating them as an ingredient into other foods to obtain functional foods could be an innovative approach in processing. The purpose of this study was to investigate the effect of the addition of quince or sea buckthorn juice to orange juice on its selected sensory characteristics and physicochemical parameters. The research material consisted of two-fruit juices prepared by mixing orange juice and quince or sea buckthorn juice in a volumetric ratio of 4:1. The levels of total extract, pH, total acidity, L-ascorbic acid and antioxidant activity were marked in the juices. In addition, color determination was carried out and sensory analysis was performed.

Results and conclusion. The orange juice enriched with sea buckthorn juice had similar antioxidant activity, compared to the orange juice, while its L-ascorbic acid content increased. The resulting juice, however, did not receive the taste and aroma approval of the sensory panel. The addition of quince juice to orange juice did not significantly change the L-ascorbic acid content, but had a positive effect on the value of antioxidant potential. The overall sensory quality of the resulting two-fruit juice was lower, compared to the evaluation of pure orange juice, however, the differences perceived did not exceed 1.4 points. Quince juice can be a valuable component of orange juice-based juice.

Key words: orange juice, sea buckthorn juice, quince juice, health-promoting compounds, sensory evaluation 

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 marca 2023 r.

Polskie akty prawne

1. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 13 stycznia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej. (Dz. U. 2023 r., poz. 338).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekstu ustawy z dn. 14 marca 1985 r. o Państwowej Inspekcji Sanitarnej. Państwowa Inspekcja Sanitarna powołana została do realizacji zadań z zakresu zdrowia publicznego, a w tym także do sprawowania nadzoru nad warunkami zdrowotnymi żywności i żywienia.
Ustawa określa organizację, zasady działania oraz uprawnienia PIS.
2. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 11 stycznia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa. (Dz. U. 2023 r., poz. 288).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekstu ustawy z dn. 13 lutego 2020 r. o Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa.
Ustawa ta określa:
 - zadania, organizację i zasady funkcjonowania Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa,
 - zasady wykonywania zadań przez przedmiotową Inspekcję,
 - organizację i zasady funkcjonowania laboratoriów przeprowadzających badania laboratoryjne na potrzeby Inspekcji.

3. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 24 listopada 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o Inspekcji Weterynaryjnej. (Dz. U. 2022 r., poz. 2629).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekstu ustawy z dn. 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej
Ustawa ta określa: zadania, organizację i tryb działania oraz finansowania Inspekcji Weterynaryjnej.
4. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 11 stycznia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o przeciwdziałaniu nieuczciwemu wykorzystywaniu przewagi kontraktowej w obrocie produktami rolnymi i spożywczymi. (Dz. U. 2023 r., poz. 351).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekstu ustawy z dn. 17 listopada 2021 r. o przeciwdziałaniu nieuczciwemu wykorzystywaniu przewagi kontraktowej w obrocie produktami rolnymi i spożywczymi.
Ustawa ta określa zasady i tryb przeciwdziałania, w celu ochrony interesu publicznego, praktykom nieuczciwie wykorzystujących przewagę kontraktową przez nabywców produktów rolnych lub spożywczych lub dostawców tych produktów.
5. Obwieszczenie Ministra zdrowia z dn. 23 grudnia 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety. (Dz.U. 2023 r., poz. 79).
Załącznik do obwieszczenia zawiera jednolity tekst rozporządzenia Ministra Zdrowia z dn. 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety.
Powyższe rozporządzenie określa:
 - wykaz witamin i składników mineralnych oraz i form chemicznych, które mogą być stosowane w produkcji suplementów diety,
 - szczegółowe wymagania w zakresie oznaczania suplementów diety,
 - dodatkowe wymagania dotyczące zawartości w suplementach diety witamin i składników mineralnych.
6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 marca 2023 r. w sprawie szczegółowych wymagań, jakie powinien spełniać wniosek o wpis do ewidencji producentów. (Dz. U. 2023 r., poz. 454).
Rozporządzenie określa szczegółowo wymagania, jakie powinien spełniać wniosek o wpis do ewidencji producentów, ewidencji gospodarstw rolnych oraz ewidencji wniosków o przyznanie płatności.
7. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 23 marca 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o wyrobach winiarskich. (Dz. U. 2023 r., poz. 550).

Obwieszczenie zawiera jednolity tekstu ustawy z dn. 2 grudnia 2021 r. o wyrobach winiarskich.

Ustawa reguluje zasady:

- wyrobu fermentowanych wyrobów winiarskich,
- znakowania fermentowanych wyrobów winiarskich,
- wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu i rozlewu wyrobów winiarskich,
- organizacji rynku wina.

8. Ustawa z dn. 28 marca 2023 r. o rejestracji i ochronie nazw pochodzenia, oznaczeń geograficznych oraz gwarantowanych tradycyjnych specjalności produktów rolnych i środków spożywczych, win lub napojów spirytusowych oraz produktów tradycyjnych. (Dz.U. 2023 r., poz. 588).

Ustawa określa:

- zasady i tryb postępowania w sprawach rejestracji: nazw pochodzenia, oznaczeń geograficznych oraz gwarantowanych tradycyjnych specjalności produktów rolnych i środków spożywczych, win i napojów spirytusowych oraz produktów tradycyjnych,
- zasady i tryb postępowania w sprawach rejestracji międzynarodowych oznaczeń geograficznych,
- zasady i tryb kontroli i certyfikacji,
- warunki ochrony na terytorium RP,
- zasady prowadzenia listy produktów tradycyjnych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/58 z dn. 5 stycznia 2023 r. zezwalające na wprowadzenie na rynek larw *Alphitobius diaperinus* (pleśniakowca lśniącego) w postaci mrożonej, pasty, suszonej i sproszkowanej jako nowej żywności oraz zmieniające rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2017/2470. (DZ.U. UE L 2023 r., 5, s. 10).

Rozporządzenie zezwala na wprowadzenie na rynek UE *Alphitobius diaperinus* (pleśniakowca lśniącego) w postaci mrożonej, pasty, suszonej i sproszkowanej jako dodatek do takich produktów spożywczych jak: batony zbożowe, chleb i bułki, zupy, dania na bazie zbóż i makaronów, chipsy, krakersy, masło orzechowe, surowe wyroby mięsne, czekoladowe wyroby cukiernicze, suplementy żywnościowe.

2. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/5 z dn. 3 stycznia 2023 r. zezwalające na wprowadzenie na rynek częściowo odtłuszczonego proszku z *Acheta domestica* (świerszcza domowego) jako nowej żywności oraz zmieniające rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2017/2470. (DZ.U. UE L 2023 r., 2, s. 9).

Rozporządzenie zezwala na wprowadzenie na rynek UE częściowo odtłuszczonego proszku z *Acheta domesticus* (świerszcza domowego) jako dodatek do takich wyrobów spożywczych, jak chleb i bułki, batony zbożowe, herbatniki, produkty na bazie makaronu, sosy, zupy i koncentraty zup, przekąski kukurydziane, napoje piwopodobne, czekoladowe wyroby cukiernicze, surowe wyroby mięsne.

3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2023/465 z dn. 3 marca 2023 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów arsenu w niektórych środkach spożywczych. (DZ.U. UE L 2023 r., 68, s. 51).

Rozporządzenie zwiększa zakres środków spożywczych objętych limitami zawartości arsenu nieorganicznego. W tej grupie umieszczono takie wyroby, jak mąka ryżowa, płatki ryżowe i prażony ryż śniadaniowy, bezalkoholowe napoje na bazie ryżu, preparaty do początkowego żywienia niemowląt.

Zaostrzono wymagania dla ryżu nieparzonego bielonego, obniżając limit arsenu organicznego do 0,15 mg/kg.

4. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/463 z dn. 3 marca 2023 r. zezwalające na wprowadzenie na rynek osteopotyny z mleka krowiego jako nowej żywności oraz zmieniające rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2017/2470. (DZ.U. UE L 2023 r., 68, s. 32).

Osteopotyna z mleka krowiego otrzymała zezwolenia na wejście na rynek UE jako nowa żywność. Może być oddawana do preparatów początkowego żywienia niemowląt oraz napojów na bazie mleka przeznaczonych dla małych dzieci.

5. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/4 z dn. 3 stycznia 2023 r. zezwalające na wprowadzenie na rynek proszku z pieczarek z witaminą D2 jako nowej żywności oraz zmieniające rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2017/2470. (DZ.U. UE L 2023 r., 2, s. 3).

Rozporządzenie zezwala na wprowadzenie na rynek proszku z pieczarek z witaminą D2 jako dodatek do takich produktów spożywczych jak śniadaniowe przetwory zbożowe, zupy, soki i nektary owocowe i warzywne, suplementy diety. ☒



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

VII SYMPOZJUM NAUKOWE z cyklu

„Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności”
17 – 19 kwietnia 2023 KIRY k. ZAKOPANEGO

Zgłoszenia: <https://forms.office.com/e/cBqdC3wX6C>

Kontakt: dr inż. Marzena Tomaszewska tel. 22 59 37 075

e-mail: symposium_bezpieczenstwo@sggw.edu.pl



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

KROKUSOWE XIII SYMPOZJUM NAUKOWE
„Probiotyki i Prebiotyki w Żywności”
19 – 21 kwietnia 2023 KIRY k. ZAKOPANEGO

Zgłoszenia: <https://forms.office.com/e/bK6tm3tePC>

Kontakt: mgr Marcelina Karbowiak tel. 22 59 37 068

e-mail: symposium_probiotyki@sggw.edu.pl

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

WSPOMNIENIE O PROF. DR HAB. PIOTRZE KONIECZNYM

PROF. DR HAB. PIOTR KONIECZNY 1956 - 2023



Z wielkim żalem społeczność Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, a przede wszystkim Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu UPP pożegnała prof. dr hab. Piotra Koniecznego.

Profesor Piotr Konieczny urodził się 20 grudnia 1956 roku w Poznaniu. Po ukończeniu w 1975 r., II Liceum Ogólnokształcącego w Poznaniu, rozpoczął studia na Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu, które ukończył z wyróżnieniem w roku 1980 uzyskując tytuł magistra inżyniera technologii żywności. Już w okresie studiów rozwijał swoje przyszłe zainteresowania zawodowe i naukowe w Kole Naukowym Technologów Żywności. W 1978 r. został odznaczony przez Zarząd Główny SZSP srebrną odznaką im. M. Kopernika „*Primus inter pares*” za osiągnięcia w nauce i pracy społecznej, a w 1979 r. został laureatem Ogólnopolskiej Olimpiady Znajomości Języków Obcych Studentów Akademii Rolniczych.

Bezpośrednio po ukończeniu studiów podjął pracę zawodową w Centralnym Ośrodku Badawczo Rozwojowym Drobiarstwa w Poznaniu, gdzie odbył 6-miesięczny staż zawodowy, a następnie został zatrudniony na stanowisku technologa. W grudniu 1981 r., na mocy porozumienia stron, rozpoczął pracę w ówczesnym Instytucie Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, zajmując kolejno stanowiska: pracownika technicznego, asystenta (1982-1983) i starszego asystenta (1983-1987). W tym czasie prowadził badania, pod kierunkiem prof. Waldemara Uchmana, których efektem była praca doktorska nt: „Technologiczne skutki raduryzacji osocza krwi zwierzęcej”. Pracę obronił w 1987r. i uzyskał stopień naukowy doktora nauk technicznych, nadany przez Radę Wydziału Technologii Żywności. Od 1987 do 2002r. pracował na stanowisku

adiunkta. Dorobek zespołu badawczego, w którym brał udział, wyróżniony został certyfikatami Departamentu Rolnictwa USA w latach 1981 i 1991. Profesor był współautorem cyklu prac, poświęconych preparatom osocza krwi i ich utrwalaniu promieniami gamma, wyróżnionych w 1988 roku prestiżową, zespołową nagrodą II stopnia Prezesa Państwowej Agencji Atomistyki. Już jako doktor uczestniczył w realizacji różnych projektów badawczych. W okresie od czerwca do listopada 1991r. Profesor Piotr Konieczny przebywał na stażu naukowym w Holandii, w prestiżowym ośrodku naukowym TNO Food and Nutrition Research Institute w Zeist jako stypendysta holenderskiej organizacji ds. współpracy międzynarodowej w szkolnictwie wyższym. Przedmiotem realizowanych badań były porównawcze analizy właściwości funkcjonalnych preparatów białkowych różnego pochodzenia dla potrzeb przemysłu spożywczego. Zdobyte wówczas wiedza i doświadczenie stały się fundamentem do prowadzenia badań będących przedmiotem rozprawy habilitacyjnej zatytułowanej „Hydrofobowość powierzchniowa jako czynnik determinujący wybrane właściwości funkcjonalne preparatów białkowych”, która stanowiła podsumowanie znaczącej części wcześniejszych zainteresowań badawczych i naukowych. Stopień naukowy doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia uzyskał w kwietniu 2002 roku i od tego roku, do 2009, zajmował stanowisko adiunkta ze stopniem doktora habilitowanego. W 2005 roku prof. Piotr Konieczny przeniósł się do Katedry Zarządzania Jakością Żywności, gdzie od 1 marca 2009 roku został zatrudniony na stanowisku prof. nadzwyczajnego. Od 2013 do 2021 r. był kierownikiem Katedry.

Ważną rolę w rozwoju naukowym Pana Profesora odegrały krótkoterminowe pobyty zagraniczne w Holandii, Niemczech i Stanach Zjednoczonych. Odbył także cykl szkoleń w Polskim Centrum Badań i Certyfikacji w Warszawie, w wyniku czego uzyskał uprawnienia Auditora Systemu Zarządzania Środowiskowego dla wymagań Normy ISO 14001 oraz pełnomocnika Systemu Zarządzania Środowiskowego. Tematyka aspektów bezpieczeństwa żywności i aspektów środowiskowych, a zwłaszcza rozwiązań systemowych od „czystej produkcji” do „zrównoważonego rozwoju” stała się podstawą zarówno badań naukowych jak i działalności popularyzatorskiej Pana Profesora.

Profesor pozostawił po sobie bogaty, znaczący i wszechstronny dorobek naukowy. Wybitne osiągnięcia i wynikające z nich tytuły i stopnie naukowe oraz wyjątkowe miejsce w świecie nauki zawdzięczał swojej fascynacji naukowej i wielokierunkowo prowadzonym pracom badawczym obejmującym szeroki zakres zagadnień z zakresu technologii żywności. W dorobku Profesora na szczególne wyróżnienie zasługują:

- zagadnienia związane z zagospodarowaniem ubocznych surowców zwierzęcych, zwłaszcza krwi zwierząt rzeźnych, w zakresie których był wybitnym i uznanym ekspertem o niekwestionowanym dorobku naukowym obejmującym również uzyskanie patentu

- badania dotyczące oceny właściwości technologicznych i przydatności preparatów białkowych pozyskiwanych z różnych źródeł,
- zagadnienia z zakresu technologii i towaroznawstwa żywności, wraz z rozwiązaniami systemowymi, w zakresie zapewnienia i doskonalenia jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego żywności,
- aspekty ekologii i ochrony środowiska, związane z przemysłową produkcją i dystrybucją żywności, w obszarze których Profesor jako jeden z pierwszych w kraju przed kilkunastu laty podjął się badań, mających na celu zmniejszenie uciążliwości produkcji żywności dla środowiska i uczestniczył w ekspertyzach z tego obszaru.

Analizując dorobek Profesora Koniecznego należy stwierdzić, że prace dotyczące preparatów białkowych, zwłaszcza białek krwi zwierzęcej i jej frakcji są reprezentowane najliczniej i obejmują zarówno aspekty metodyczne z zakresu oceny właściwości funkcjonalnych, ich modyfikowania jak i przydatności technologicznej preparatów w produkcji wybranych asortymentów i wędlin.

Należy podkreślić, że prof. dr hab. Piotr Konieczny podejmował w badaniach ważne zagadnienia mieszczące się w głównym nurcie współczesnej nauki o żywności. Obejmowały aktualną obecnie problematykę zrównoważonego rozwoju, produkcji, dystrybucji i konsumpcji żywności. Badania charakteryzuje wielokierunkowość, interdyscyplinarność i silne powiązanie z praktyką. Prace, realizowane przez Profesora mają wysokie walory poznawcze i aplikacyjne. Aktywność zawodową cechowało zawsze umiejętne łączenie badań naukowych z działalnością wdrożeniowo-innowacyjną na rzecz przemysłu spożywczego. Ogniwem spajającym wszystkie obszary badań naukowych profesora są zagadnienia związane z technologią mięsa, surowcami ubocznymi, utrwalaniem, jakością, bezpieczeństwem zdrowotnym oraz aspektami środowiskowymi. Profesor wielokrotnie był zapraszany i uczestniczył w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, czego rezultatem są liczne oryginalne prace oraz referaty. Był również inicjatorem i brał aktywny udział w organizowaniu wielu seminariów i konferencji naukowych.

Osiągnięcia naukowe profesora udokumentowane są bogatym dorobkiem obejmującym ponad 200 prac, z czego 36 prac opublikowanych zostało w uznanych czasopiśmie z listy filadelfijskiej: Chemistry Applied, Food Science Technology, Agriculture, Dairy, Animal Science, Animals, Toxicology, Environmental Sciences i wielu innych. Składają się na niego zarówno oryginalne prace twórcze, prace przeglądowe, podręczniki, monografie, opracowania książkowe, opinie, prace projektowe, doświadczalno-konstrukcyjne oraz ekspertyzy. Dorobek Profesora tworzą też liczne publikacje popularno-naukowe, również w czasopiśmie branżowych. Prof. dr hab. Piotr Konieczny był uczestnikiem i wykonawcą w dużych projektach badawczych, takich jak:

- realizowane we współpracy z Departamentem Rolnictwa USA w latach 1982-1994, związane z koncepcją zagospodarowania krwi zwierzęcej i osocza,

- projekt badawczy w ramach ogólnokrajowego Centralnego Programu Badawczo-Rozwojowego w Rolnictwie, dotyczący wykorzystania metod radiacyjnych w rolnictwie,
- projekt w ramach współpracy międzyuczelnianej z Uniwersytetem Adama Mickiewicza w Poznaniu w zakresie gospodarki wodno-ściekowej w sektorze rolno-spożywczym
- projekt międzynarodowy COST.

Profesor uczestniczył w organizacji wielu seminariów i konferencji poświęconych racjonalnemu zagospodarowaniu ubocznych produktów rzeźnych, zwłaszcza krwi zwierzęcej i jej frakcji, dla przemysłu mięsnego. Był również członkiem i przewodniczącym komitetów organizacyjnych seminariów, konferencji naukowych i naukowo-technicznych, takich jak: Seminarium międzynarodowe: „HACCP – analiza jakości wyrobów w małych zakładach mięsnych” w Poznaniu w 1996 roku; XIII Europejskie Sympozjum WPSA „Jakość Mięsa Drobiowego” oraz VII Europejskie Sympozjum WPSA „Jakość Jaj i Przetworów Jajczarskich” w 1997 roku, Konferencja „Wdrażanie zintegrowanych systemów zarządzania jakością w przetwórstwie żywności” w ramach Targów POLAGRA w Poznaniu oraz „Proekologiczne aspekty przetwarzania surowców zwierzęcych” – Targi POLEKO, Poznań 1999 rok.

Aktywne było również zaangażowanie Profesora w działalność dydaktyczną. Profesor Piotr Konieczny był nauczycielem akademickim o bogatym i wartościowym dorobku dydaktyczno – wychowawczym. Prowadził wykłady i ćwiczenia na wszystkich kierunkach studiów I, II i III^o oferowanych przez Wydział, studiach anglojęzycznych, doktoranckich i studiach podyplomowych Zarządzanie Jakością i Bezpieczeństwem Żywności. Realizował wykłady dla studentów zagranicznych oraz w programie Erasmus. Profesor przygotował dla kilku przedmiotów nowoczesne programy oraz brał udział w opracowaniu nowych kierunków studiów. Organizował zajęcia terenowe dla studentów specjalizacji: technologia mięsa i drobiu, wyjeżdżał jako opiekun wakacyjnych zagranicznych praktyk studenckich na Węgry i do Niemiec, w ramach współpracy międzyuczelnianej. Był także współautorem programu i kierownikiem wyjazdu szkoleniowego grupy studentów do Niemiec w 2003 roku, współfinansowanego ze środków Niemieckiej Centrali Wymiany Akademickiej. W jego dorobku są również opracowania przygotowywane jako pomoce dydaktyczne dla studentów wydziałów technologii żywności i kierunków pokrewnych. Pod opieką Profesora zrealizowano kilkadziesiąt prac dyplomowych magisterskich, inżynierskich i licencjackich. W ramach działalności związanej z kształceniem młodej kadry prof. dr hab. Piotr Konieczny był promotorem 5 obronionych prac doktorskich. Pełnił funkcję recenzenta w 8 przewodach doktorskich i habilitacyjnych oraz w 2 postępowaniach o nadanie tytułu Profesora. W 2014 roku otrzymał tytuł profesora nauk rolniczych.

Profesor Konieczny był bardzo zaangażowany w działalność organizacyjną na rzecz Wydziału, Uczelni i środowiska akademickiego. W ramach działalności organizacyjnej Pan Profesor brał udział w pracach wielu komisji senackich i wydziałowych. Był członkiem Senatu UP w Poznaniu, Senackiej Komisji ds. Rolniczych i Leśnych Zakładów Doświadczalnych oraz Senackiej Komisji ds. Nauki. Uczestniczył też w pracach komisji senackich: ds. Studiów, w której pełnił również funkcję przewodniczącego oraz ds. Statutowo-Regulaminowych. Przez dwie kadencje był przedstawicielem pracowników niesamodzielnych w Radzie Wydziału, sekretarzem Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, członkiem Wydziałowej Komisji ds. Organizacji i Rozwoju Wydziału. Szczególnie ważny okres jego działalności na Wydziale to pełnienie funkcji Prodziekana ds. Studiów Niestacjonarnych w kadencji 2005-2008, a następnie Prodziekana ds. Studiów Stacjonarnych w kadencji 2008-2012. Jednym z ważniejszych wyzwań w tej kadencji stało się uruchomienie dwóch nowych kierunków studiów tj. dietetyki i towaroznawstwa (ze specjalnością Zarządzanie Jakością Żywności). Wówczas pojawiła się również na Wydziale unikatowa w skali kraju specjalność Analityka Żywności. W tym okresie Wydział, jako jeden z trzech na uczelni, podjął wysiłek zorganizowania anglojęzycznych studiów na poziomie II stopnia na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka. W okresie sprawowania funkcji Prodziekana, Profesor uczestniczył także w opracowywaniu materiałów promocyjnych dotyczących oferty edukacyjnej wydziału. Był również współautorem dużego przeglądowego opracowania, opublikowanego w materiałach wydanych z okazji Jubileuszu 50-lecia istnienia Wydziału Nauk o Żywności i Żywnieniu. Profesor wraz z zespołem dziekańskim koordynował także prace dostosowujące programy kształcenia na kierunkach realizowanych przez Wydział do nowych wymogów wg tzw. Krajowych ram Kwalifikacji, co pozwoliło stworzyć nowocześniejszy system kształcenia, uwzględniający potrzeby rynku pracy. W późniejszym okresie Profesor brał też udział w opracowaniu programu kierunku studiów jakość i bezpieczeństwo żywności.

Obok znamienitej działalności naukowo-badawczej i dydaktycznej należy podkreślić również inną aktywność, w której Profesor wykazywał szczególne zaangażowanie, a mianowicie kontaktom z otoczeniem gospodarczym. Ważny zakres działalności Profesora stanowiła wieloletnia współpraca ze Stowarzyszeniem Rzeźników i Wędliniarzy RP, obejmująca działalność szkoleniową, popularyzatorską oraz współorganizację corocznego Forum Rzeźników i Wędliniarzy podczas Międzynarodowych Targów Rolniczo-Przemysłowych POLAGRA w Poznaniu. W związku ze swoją aktywnością, w roku 2001 został wyróżniony Honorową Odznaką Rzemiosła, nadaną uchwałą Prezydium Zarządu Związku Rzemiosła Polskiego. Działalność popularyzatorską prowadził również przewodnicząc pracom jury podczas etapu okręgowego Olimpiady Wiedzy o produkcji Żywności w 1999 i 2000 roku. Profesor przez kilka lat uczestniczył w pracach komisji konkursu na najlepsze produkty spożywcze honorowanym

„Złotym Medalem” Międzynarodowych Targów Rolno-Spożywczych POLAGRA w Poznaniu. Był członkiem Związku Nauczycielstwa Polskiego, Oddział przy UPP, Stowarzyszenia Naukowo-Technicznego Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego NOT, Oddział w Poznaniu oraz Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, podejmując liczne zadania organizacyjne na szczeblu Zarządu Głównego oraz Oddziału Wielkopolska. Od 2003 roku przez 18 miesięcy pełnił funkcję Wiceprezesa Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności Oddziału Wielkopolskiego, a od 1 stycznia 2004 roku, w VI kadencji, był członkiem Zarządu Głównego PTTŻ. Profesor utrzymywał stałe kontakty ze środowiskiem producentów i dystrybutorów żywności w całym kraju, aktywnie uczestnicząc w inicjatywach podejmowanych przez interesariuszy jak np. Poznański Park Naukowo-Technologiczny Fundacji UAM w Poznaniu. Był również członkiem Rady Naukowej Centralnego Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Aparatury Badawczej i Dydaktycznej w Poznaniu. W 2023 roku został członkiem komisji Nauk Towaroznawczych – Nauk o Jakości przy Oddziale PAN w Poznaniu w kadencji 2023-2026.

Za swoją działalność naukową i dydaktyczną prof. dr hab. Piotr Konieczny otrzymał szereg nagród i wyróżnień, takich jak: indywidualne i zespołowe Nagrody Rektora, Nagrodę zespołową II stopnia Prezesa Państwowej Agencji Atomistyki, Złotą Odznakę Związku Nauczycielstwa Polskiego, Honorową Odznakę Rzemiosła.

Profesor Piotr Konieczny zmarł w Poznaniu 7 kwietnia 2023 roku.

Profesor był nie tylko wybitnym naukowcem, po którym pozostanie bogaty dorobek naukowy, ale przede wszystkim człowiekiem otaczającym niezwykłą życzliwością i ciepłem współpracowników Wydziału i Uczelni, doktorantów i studentów, których inspirował swoją kreatywnością i pasją badacza. Dla mnie osobiście i dla całego naszego zespołu był nie tylko przełożonym, ale przede wszystkim również wspaniałym kolegą, przyjacielem i ważną postacią w życiu zawodowym i osobistym.

*Prof. UPP dr hab. Renata Cegielska-Radziejewska,
Katedra Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności
UP w Poznaniu*

*Prof. UPP dr hab. Bożena Danyłuk,
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu
UP w Poznaniu*

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 33 Nr 1

marzec 2023

ZEBRANIE ZARZĄDU GŁÓWNEGO PTTŻ XII KADENCJI

Dnia 30 marca 2023 r. odbyło się zebranie Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności XII kadencji w formie zdalnej. Spotkanie otworzyła Prezes Zarządu Głównego prof. Joanna Stadnik i przedstawiła sprawozdanie z działalności Prezydium ZG PTTŻ w okresie styczeń - marzec 2023 r. W dalszej kolejności omówiono sprawy organizacyjne Towarzystwa i powołano dwie nowe sekcje: Probiotyki i Prebiotyki oraz Chemii i Technologii Zbóż. Następnie przedstawiono plany działania Oddziałów i Sekcji na rok 2023 oraz informacje o dofinansowaniu działalności popularyzującej naukę. Przekazano również informacje o konkursie PTTŻ na najlepszą pracę doktorską z zakresu nauk o żywności obronioną w 2022 r. Następnie przekazano informacje o konferencjach współorganizowanych przez Zarząd Główny, Oddziały i Sekcje PTTŻ w roku 2023 oraz przedstawiono propozycje terminarza Sesji Naukowych SMKN PTTŻ.

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE W ROKU 2023

Kwiecień

- 17 - 19 KIRY k. ZAKOPANEGO, Ośrodek SGGW „Marymont“ = **VII 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
Zgłoszenia: <https://forms.office.com/e/cBqdC3wX6C>
Kontakt: dr inż. Marzena Tomaszewska tel. 22 59 37 075
e-mail: sympozjum_bezpieczenstwo@sggw.edu.pl
- 19 - 21 KIRY k. ZAKOPANEGO, Ośrodek SGGW „Marymont“ = **Krokusowe XIII 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

Zgłoszenia: <https://forms.office.com/e/bK6tm3tePC>
Kontakt: mgr Marcelina Karbowskiak; tel. 22 59 37 068
e-mail: symposium_probiotyki@sggw.edu.pl

- 22 GDANSK (on line) = **II Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Żywność i żywienie w pigułce”**
Organizator: Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Informacje: <https://bromatologia-konferencja.gumed.edu.pl/>
Kontakt: bromatologia.konferencja@gmail.com

Maj

- 11 - 12 WARSZAWA – **XXVII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt. "Rozwój Nauk o Żywności. Zrównoważona przyszłość" oraz Xth International Session of Young Scientific Staff "Food Science Development. Sustainable Future"**
Organizatorzy: Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Oddział Warszawski, Instytut Nauk o Żywności SGGW, Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ
Patronat: Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN.
Informacje: <http://www.smkn2023.pl>
Kontakt: smkn2023@sggw.edu.pl

Czerwiec

- 14 - 16 BELGRAD, SERBIA = **XXII Congress EuroFoodChem**
Organizator: Food Chemistry Division of EuChemS and Serbian Chemical Society.
Informacje: <https://xxiieurofoodchem.com/>

Lipiec

- 05 - 07 PARYŻ, FRANCJA - **7th International ISEKI-Food Conference.**
Informacje: <https://iseki-food2023.isekiconferences.com/>
- 10 – 11 PRAGA, REPUBLIKA CZESKA - **35th International Conference on Food Science and Technology**
Informacje: <https://foodscience.foodtechconferences.com/>

Sierpień

- 09 – 10 LONDYN, WIELKA BRYTANIA - **5th International Conference on Food Science & Technology**
Organizator: Inovine Meetings LLC.
Informacje: <https://foodtechnology.inovineconferences.com>

- 14 - 17 BURGAS, BULGARIA - **11th International Conference Agriculture & Food.**
Organizator: Science & Education Foundation, Bulgaria.
Informacje: <https://www.sciencebg.net/en/conferences/agriculture-and-food/>
- 16 - 17 BARCELNA, HISZPANIA - **International Conference on Food Processing Technology ICFPT.**
Organization: World Academy of Science, Engineering and Technology
Informacja: <https://waset.org/food-processing-technology-conference-in-august-2023-in-barcelona>
- Wrzesień
- 07 - 08 RZYM, WŁOCHY – **8th Conference on Innovations In Nutrition and Food Science**
Informacje: <https://nutrition-foodscience.org/>
- 7 ŁÓDŹ II Konferencję Naukową „**Postępy w utrwalaniu żywności – na styku nauki i praktyki**”
Organizatorzy: Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej oraz Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN
Informacje: <http://mikrobiologia.p.lodz.pl/ii-konferencja-naukowa-3>
Kontakt: Dr inż. Magdalena Efenberger-Szmechtyk;
e-mail: konferencjautrwalenie@info.p.lodz.pl; tel. 42 631 34 86
- 17 – 20 POZNAŃ – 19 Międzynarodowy Kongres Naukowy EuroFedLipid „**Fats, oils and lipids: From raw materials to consumer expectation**”. Organizatorzy: European Federation for the Science and Technology of Lipids, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Sekcja Chemii i Technologii Tłuszczów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.
Informacje: www.eurofedlipid.org/meetings/poznan2023
- 18 - 20 WIELICZKA-KRAKÓW – **5 Polski Kongres Reologii.** Organizatorzy: Polskie Towarzystwo Reologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności Uniwersytet Przyrodniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Oddział Małopolski. Patronat: Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN.
Informacje: <https://pkr.urk.edu.pl/>; Kontakt: pkr@urk.edu.pl
- 18 - 21 PRAGA, REPUBLIKA CZESKA - FBHC 2023 **4th International Conference on Food Bioactives & Health.**
Organizator: Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences.
Informacje: <https://fbhc2023.com/>

- 21 - 22 KRAKÓW - XV Ogólnopolska Konferencja Naukowa z cyklu "Żywność XXI wieku" **"Żywność jako wyzwanie dla nauki i przemysłu"**
Organizatorzy: Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Oddział Małopolski, Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.
Informacje: <https://ptzm.org/>;
Kontakt: dr hab. inż. prof. URK Dorota Gałkowska, tel. (12) 662 47 77; e-mail: zywnoscxxi@urk.edu.pl;
Zgłoszenia: https://wtz.urk.edu.pl/konferencja_zywnosc_XXI_wieku.html
- 27 - 29 SZCZECIN - XLVI Konferencja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu PAN **„Rola nauki o żywności i żywieniu w kształtowaniu jutra”**
Organizatorzy: Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego W Szczecinie.
Patronat: Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN.
Informacje: <https://wnozir.zut.edu.pl/aktualnosci/xlvi-sesja-naukowa-knoz-pan.html>
Kontakt: dr inż. Wojciech Sawicki tel. (091) 449 6541; email: wojciech.sawicki@zut.edu.pl
- 6 - 8 WALENCJA, HISZPANIA – **37th EFFoST International Conference Sustainable Food and Industry 4.0: Towards the 2030 Agenda**. Organizator: The European Federation of Food Science and Technology.
Informacje: <https://effostconference.com/>

Październik

- 10 - 12 DREZNO, NIEMCY – **3rd Food Chemistry Conference: Shaping a healthy and sustainable food chain through knowledge**.
Organizator: Elsevier
Informacje: <https://www.elsevier.com/events/conferences/food-chemistry-conference>

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

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**

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
<http://pttz.org/pl/>**

PREZES /ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. inż. Joanna Stadnik Prezes PTTŻ	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: (81) 462-33-41; e-mail: joanna.stadnik@up.lublin.pl
Dr hab. inż., prof. UP Dariusz Stasiak Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: (81) 462-33-43; e-mail: dariusz.stasiak@up.lublin.pl
Dr hab. inż., prof. PG Edyta Malinowska-Pańczyk Oddział Gdański https://chem.pg.edu.pl/pttzog	PG, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk Tel.: (58) 347-26-56; e-mail: pttzog.wch@pg.edu.pl; edymalin@pg.edu.pl
Dr hab. inż., prof. UP Dariusz Stasiak Oddział Lubelski https://up.lublin.pl/foodscience/towarzystwa-naukowe/	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: (81) 462-33-43; e-mail: pttz@up.lublin.pl; dariusz.stasiak@up.lublin.pl
Dr hab. inż. Krzysztof Kołodziejczyk Oddział Łódzki http://www.pttz.p.lodz.pl	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: (42) 631-27-77; e-mail: pttz@info.p.lodz.pl; krzysztof.kolodziejczyk@p.lodz.pl
Dr hab. inż., prof. URK Emilia Bernas Oddział Małopolski http://www.pttz.m.org/	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel.: (12) 662-47-56; e-mail: emilia.bernas@urk.edu.pl
Prof. dr hab. inż. Iwona Konopka, Oddział Olsztyński http://www.uwm.edu.pl/kpichsr/?page=216	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-726 OLSZTYN Tel.: (89) 523-34-66; e-mail: iwona.konopka@uwm.edu.pl
Dr Maciej Kluz Oddział Podkarpacki https://sites.google.com/view/pttzpodkarpacki/strona	UR w Rzeszowie, ul. M. Cwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW Tel.: (17) 785-53-60; e-mail: pttz.podkarpacie@gmail.com; mkluz@ur.edu.pl
Dr hab. inż., prof. ZUT Anna Mituniewicz-Malek Oddział Szczeciński www.pttz.zut.edu.pl/	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 SZCZECIN Tel.: (91) 449-65-10; e-mail: anna.mituniewicz-malek@zut.edu.pl
Dr hab. inż., prof. SGGW Agata Marzec Oddział Warszawski http://owpttz.sggw.pl	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: (22) 593-75-65; e-mail: agata_marzec@sggw.pl
Dr hab. inż., prof. UPP Małgorzata Gumienna Oddział Wielkopolski http://pttzow.up.poznan.pl	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 848-72-67; e-mail: gumienna@up.poznan.pl
Dr hab. inż. Anna Kancelista Oddział Wrocławski http://wnoz.up.wroc.pl/pttzow/index.php	UPWr, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: (71) 320-77-35; e-mail: pttz_ow@wnoz.up.wroc.pl; anna.kancelista@upwr.edu.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel. +48 22 646-20-60; e-mail: krajewski@wsliiz.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
Prof. dr hab. inż. Magdalena Rudzińska Chemia i Technologii Tłuszczów	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 848-72-76; e-mail: magdar@up.poznan.p
Prof. dr hab. inż. Antoni Golachowski Technologii Węglowodanów	UPWr, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: (71) 320-77-68; e-mail: antoni.golachowski@upwr.edu.pl
Dr hab. inż. Dorota Walkowiak-Tomczak Technologii Owoców i Warzyw	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 846-60-43; e-mail: dorota.walkowiak@up.poznan.pl
Dr inż. Monika Przeor Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: (61) 848-73-30; e-mail: monika.przeor@up.poznan.p
Dr hab. Justyna Żulewska, prof. UWM Chemia i Technologii Mleka	UWM, ul. Michała Oczapowskiego 7, 10-719 OLSZTYN Tel.: (89) 523-34-20; e-mail: justyna.zulewska@uwm.edu.pl
Dr hab. inż. Dorota Zielińska, prof. SGGW Probiotyki i Prebiotyki	SGGW, ul. ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 WARSZAWA Tel.: (22) 593-70-65; e-mail: dorota_zielinska@sggw.edu.pl

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 1 (134)

Kraków 2023

Vol. 30

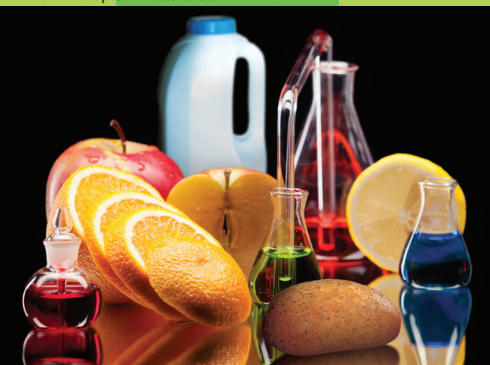
CONTENTS

From the Editor	3
KAMILA GODERSKA, GRZEGORZ NIKRANDT: The role of nutrition and bioactive substances of plant origin in the prevention of cancer diseases	5
BOHDAN ACHREM-ACHREMOWICZ: The importance of proper nutrition in the prevention and treatment of sarcopenia in the elderly	19
ANNA SADOWSKA-ROCIK, MAGDALENA SURMA, KONRAD STANASZEK: An analysis of the content of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheeses	27
MICHAŁ MIŁEK, MONIKA KLOC, MAŁGORZATA DŻUGAN: The content of polyphenols and caffeine in spent coffee grounds obtained from various home brewing methods	40
AGNIESZKA RUDZKA, ONDŘEJ PATLOKA, MAGDALENA PŁECHA, TOMASZ KRÓLIKOWSKI, MICHAŁ OCZKOWSKI, MAREK ZBOROWSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, DOROTA ZIELIŃSKA: Changes in the microbiome of a human and in the simulator of human intestinal microbial ecosystem (Shime®) in response to a diet and probiotic supplementation	53
PATRYCJA SKWAREK, MAŁGORZATA KARWOWSKA: Tomato pomace as an innovative ingredient for nitrate-reduced dry fermented sausages	73
ROBERT GAJDA: Relationship between food insecurity for variable reasons, physical activity and selected health situations among older adults in Poland: a cross-sectional study	86
LUCYNA PACHOCKA, MAŁGORZATA MĘKUS: Comparative analysis of a diet of women of different ages, including the consumption of dairy products, a source of probiotics – pilot studies	106
EWELINA SIDOR, KAROLINA TRYBULEC, MONIKA TOMCZYK, MAŁGORZATA DŻUGAN: Spirulina (<i>Arthrospira platensis</i>) as a component of functional drinks	118
AGNIESZKA RYZNAR-LUTY, KRZYSZTOF LUTOSŁAWSKI: Physicochemical and sensory evaluation of orange juice enriched with sea buckthorn or quince juice	132
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	144
Contemporary terms: Prof. Piotr Konieczny 19561 - 2023	149
The Food Technologist	155

Only reviewed papers are published

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

© mikelaptev - Fotolia.com



Wydawnictwo Naukowe PTTŻ
30-149 Kraków, ul. Balicka 122
e-mail: redakcja@pttz.org
www.wydawnictwo.pttz.org