

ŻYWNOŚĆ

Nauka
Technologia
Jakość

FOOD

Science
Technology
Quality



Kwartalnik
Nr 3
Kraków 2023

Nr 3 (136); Rok 30
ISSN 2451-0769
e-ISSN 2451-077



SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
IZABELA PODGÓRSKA-KRYSZCZUK, MONIKA KORDOWSKA-WIATER, EWA SOLARSKA, URSZULA PANKIEWICZ: Drożdże jako alternatywna metoda zwalczania grzybów w przemyśle spożywczym	5
ROBERT GAJDA, MAŁGORZATA SOBIESZCZAŃSKA, ŁUKASZ NOCULAK, MAŁGORZATA SZYMALA-PĘDZIK, MONIKA MAĆKÓW, BEATA KACZMAREK-WDOWIAK: Związek czynników ryzyka żywieniowego, cech demograficznych i statusu socjo-ekonomicznego w badanej grupie osób starszych zamieszkujących społeczność lokalną w Polsce	22
MONIKA MAJOCH, JUDYTA HOMONCIK, ANNA MIKULEC, IZABELLA WĘGRZYN: Częstość występowania oraz wybrane czynniki ryzyka rozwoju ortoreksji z wykorzystaniem testu ORTO-15	47
ANNA GAŚSIOR, MILENA GIEMZA, WERONIKA PONIKIEWSKA, AGNIESZKA MACHUL-ŻWIRBLA, JANUSZ MAGIERA, JACEK BUŁKA, KRYSZYNA SKWARCZYŃSKA-MAJ, ELŻBIETA POMIĘTŁO: Zastosowanie szczepu probiotycznego <i>Lactiplantibacillus Plantarum</i> PL8 w produkcji wyrobów czekoladowych o porowatym rdzeniu	68
AGATA ZNAMIROWSKA-PIOTROWSKA, OKSANA PETRUSHA, MAŁGORZATA PAWŁOS, MAGDALENA KOWALCZYK, MAGDALENA BUNIEWSKA-OLEJNIK, KATARZYNA SZAJNAR: Wpływ dodatku błonnika z babki płesznik i błonnika z aronii na jakość probiotycznego mleka fermentowanego	101
KAMILA POKORSKA-NIEWIADA, MILENA SADOWSKA, AGATA WITCZAK, MAŁGORZATA SZCZUKO: Pierwiastki śladowe w płatkach śniadaniowych - korzyści i zagrożenia związane z ich konsumpcją	121
DOROTA JAKKIELSKA, RAFAŁ WAWRZYŃIAK, MARCIN FRANKOWSKI, ANETTA ZIOŁA-FRANKOWSKA: Charakterystyka profilu lotnych związków organicznych w polskich winach przy wykorzystaniu GC-MS	139
IRENEUSZ OCHMIAN, FRYDERYK SIKORA, MAŁGORZATA GAŁCZYŃSKA, SABINA LACHOWICZ-WIŚNIEWSKA: Osiem starych odmian jabłoni - ocena możliwości ich wykorzystania przez przemysł przetwórczy	160
AGNIESZKA STAREK-WÓJCICKA, ELŻBIETA GRZĄDKA, AGNIESZKA SAGAN, PIOTR TEREKUN, MICHAŁ KWIATKOWSKI, DAWID ZARZECZNY, ZBIGNIEW KOBUS, BARBARA CHUDZIK, DARIUSZ ANDRZEJKO, JOANNA PAWŁAT: Wpływ obróbki zimną plazmą atmosferyczną na jakość świeżego soku tłoczonego z marchwi	178
AGATA JABŁOŃSKA, MARCIN KRUK, SZYMON POCHYLSKI, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA: Przydatność fermentowanej herbaty kombucha do produkcji napojów niskoalkoholowych	195
MACIEJ JARZĘBSKI, SZAŁOME NIYOBUHUNGIRO, WOJCIECH SMUŁEK, GRZEGORZ FIUTAK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK, MAREK SADY: Analiza układów emulyjnych z olejem z konopi jako suplementów witaminy K	209
MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Wielkość gospodarstwa domowego i dzień tygodnia a poziom zmarnowanej żywności	224
GRAŻYNA BORTNOWSKA: Wpływ składu bezglutenowych żeli binarnych na retencję i uwalnianie się substancji zapachowych	244
DOROTA GAŁKOWSKA, MONIKA POŁUDNIAK, LESŁAW JUSZCZAK: Wpływ polidekstrozy na charakterystykę reologiczną oraz właściwości sensoryczne deserów skrobiowo-mlecznych o obniżonej zawartości sacharozy	265
DOMINIKA KACZMAREK, MALWINA WÓJCIK, KAMILA KAPUŚNIAK, JANUSZ KAPUŚNIAK: Ocena właściwości funkcjonalnych musów warzywno-owocowych wzbogaconych preparatem błonnikowym ze skrobi ziemniaczanej	284
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	300
XV Konferencja Naukowa z cyklu „ŻYWNOŚĆ XXI WIEKU”	302
Technolog Żywności	307

Zamieszczone artykuły są recenzowane



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (136)

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. Miroslava 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 Piskula, 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 ŻYWNOSCI 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,

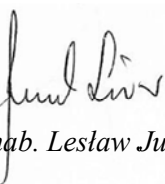
przekazujemy Państwu nr 3(136) czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, w którym publikujemy artykuły naukowe o zróżnicowanej tematyce z zakresu nauk o żywności i żywieniu.

Zapraszamy również do lektury tzw. stałych działów, w których zamieściliśmy m.in. informacje o wybranych konferencjach, w tym 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, wrzesień 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”.

IZABELA PODGÓRSKA-KRYSZCZUK, MONIKA KORDOWSKA-WIATER,
EWA SOLARSKA, URSZULA PANKIEWICZ

YEAST AS AN ALTERNATIVE METHOD FOR FUNGAL CONTROL IN FOOD INDUSTRIES

S u m m a r y

Background. The quality of the final product in industries such as bakery, winemaking, brewing, and sausage and cheese making often deteriorates due to the development of food spoilage microbes. Filamentous fungi and their toxic metabolites, known as mycotoxins, are among the factors that significantly reduce food quality and seriously threaten food safety. Mycotoxins cause biochemical, physiological and pathological changes in living organisms and have a toxic effect even at low concentrations. The threat to food safety posed by pathogenic fungi and their metabolites has prompted the search for new ways to reduce their entry into the food chain.

Results and conclusions. In recent years, much attention has been paid to biopreservation methods. Biopreservation refers to extending shelf life and enhancing food safety using indigenous or added microorganisms and their antimicrobial metabolites. Starter cultures of yeast antagonistic against toxigenic fungi can contribute to the product's safety, primarily by inhibiting the growth of pathogens during the fermentation process and improving the stability of this process. This review describes the main problems related to the occurrence of fungi in food industries and the strategies for reducing the presence of fungi and mycotoxins in food. Focus is placed in particular on the use of yeast as antifungal microorganisms tested for food bioprotection, and their mechanisms of action.

Keywords: biopreservation, biocontrol, food safety, control of fungi, mycotoxins

Introduction

Food losses are a major global problem today, especially in view of the ever-growing world population and the fact that about one-third of all food produced for human consumption is either lost or wasted [23]. The reasons for this huge global food

*Dr inż. I. Podgórska-Kryszczuk ORCID: 0000-0001-7250-9357, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności; dr hab. M. Kordowska-Wiater ORCID: 0000-0002-6255-7854; prof. dr hab. E. SolarSKa ORCID: 0000-0001-6868-5032, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka; prof. dr hab. U. Pankiewicz ORCID: 0000-0003-1477-5598, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin.
Kontakt: izabela.podgórska-kryszczuk@up.lublin.pl*

loss are multifarious, but the main cause/factor is microbial spoilage, which affects the organoleptic quality of products (appearance, taste and aroma) and has a significant impact on food safety. Among food spoilage microorganisms, fungi pose a serious problem at every stage of the food chain due to their ability to grow under various, even harsh, conditions. In addition to the negative impact on food quality, some fungal genera, most notably *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Alternaria*, have the ability to produce secondary metabolites (mycotoxins) that can be toxic to humans and animals. Mycotoxins cause biochemical, physiological and pathological changes in living organisms and produce a toxic effect even at low concentrations [31]. They rarely lead to acute food poisoning, but by accumulating in the body, they cause chronic poisoning. Literature reports indicate that mycotoxins are stable and remain mostly intact during food production [3].

Quality is an important distinguishing feature of a product, and there is now an increasing interest in food quality among consumers and producers alike. The term food quality is understood as the health quality of food products, which depends on the nutrients and bioactive components they contain and on the presence of foreign substances that may be harmful to human health and cause many diseases. Commercial quality means the characteristics of an agri-food article regarding its organoleptic, physicochemical and microbiological properties in terms of production technology, size or weight, as well as requirements arising from the manner of production, packaging, presentation and labeling. Food producers should make it their top priority to provide consumers with high-quality food, ensuring a high degree of safety, so that their products are both tasty and healthy [46]. Food can be preserved to avoid spoilage. Benzoic, sorbic, lactic and acetic acids are some of the major organic acids that have been used in food preservation. These compounds act against a variety of spoilage microorganisms, including some fruit spoiling fungal pathogens [39]. Propionic acid and some of its salts, mainly sodium and calcium, as well as sorbic acid and its derivatives, are approved for the preservation of bread. The limits of 0.2 % (w/w) and 0.3 % (w/w) have been established for sorbate and propionate addition, respectively [58]. It was observed, however, that the addition of high concentrations of these preservatives, though desired for antifungal activity, delays the fermentation of the dough, and in the case of products made of light flours, it changes their aftertaste [38]. There are also reports in the literature of urticaria and contact dermatitis after consuming products with the addition of sorbic acid [60].

Demand for natural, less processed products, without the addition of chemical preservatives, prompts the search for and development of new food preservation methods allowing to eliminate of harmful microorganisms and their metabolites. Biological control is considered a safe method and is gaining more and more popularity, not only in agriculture but also in the food industry [55]. Microorganisms such as yeast, which

produce growth-inhibition metabolites, present a biological alternative for food and beverage preservation.

Fungal spoilage in food industries

Fungi are some of the most resistant spoilage microorganisms, and they are able to evade the control strategies used by the food industry. Many of them are highly tolerant to abiotic environmental factors and develop in a wide temperature range from 0 to 30 °C. Fungi are well-adapted to particular ecological niches and are able to contaminate and spoil commercially processed foods [68]. Food products are also susceptible to fungal spoilage due to their nutrient-rich composition. However, this susceptibility depends on various factors: (a) the nature of the food matrix (living material or not, liquid or solid), its biological, physical, and chemical parameters (natural microbiota, water activity, pH); and its composition (nutrient content, solute type); (b) management during harvesting of vegetables and fruits (maturity, handling) and storage of raw material (hygrometry, temperature and duration); (c) technological processes used during production (heating, drying, fermentation, preservative addition); and (d) post-production storage conditions (temperature, relative humidity). The intrinsic properties of the food matrix, as well as the external factors associated with them, control the development of certain fungal genera or species. This usually results in the selection or dominance of one or more fungal species on a given matrix [31].

Fungal contamination can lead not only to visual defects but also to various organoleptic defects, including gas production, off-flavours and texture changes. Another huge problem that carries a serious health risk is the possible production of mycotoxins by some species of fungi [51]. The synthesis of mycotoxins by fungi is genetically determined and related to the basic metabolic pathways. Phenotypically, it is determined by environmental factors, which include the chemical composition of the substrate, the presence of micronutrients, temperature, moisture and the presence of competitive microflora [44]. Mycotoxins exhibit various toxic effects: genotoxic, cytotoxic, neurotoxic, hepatotoxic, or immunosuppressive, depending on their structural parameters [6]. The most important mycotoxins are aflatoxins, ochratoxin A, patulin, zearalenone, fumonisins, T-2 and HT-2 toxins, and deoxynivalenol. The presence of mycotoxins in processed foods is a serious problem as these metabolites are usually resistant to technological processes [31]. Table 1 lists the important mycotoxins, main producers and some commonly contaminated food commodities.

Table 1. The important mycotoxins in food commodities

Tabela 1. Najważniejsze mykotoksyny w produktach spożywczych

Mycotoxin / Mykotoksyna	Fungal species / Gatunki grzybów	Food commodity / Środek spożywczy
Aflatoxins B1, B2, G1, G2 / Aflatoksyny B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Maize, wheat, rice, sorghum, almond, peanut, figs, pistachio, cottonseed / Kukurydza, pszenica, ryż, sorgo, migdały, orzeszki ziemne, figi, pistacje, nasiona bawełny
Aflatoxin M1 / Aflatoksyna M1	Derivative of aflatoxin B1 / Pochodne aflatoksyny B1	Milk, milk products / Mleko, produkty mleczne
Citrinin (citreoviridin) / Cytrynina (cytreowirydyna)	<i>Penicillium citrinum</i> , other spp. from the genera <i>Aspergillus</i> and <i>Monascus</i>	Cereals / Zboża
Fumonisin B1, B2, B3 / Fumonizyny B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>	Maize, maize products, sorghum, asparagus / Kukurydza, produkty kukurydziane, sorgo, szparagi
Ochratoxin A / Ochratoksyna A	<i>Aspergillus ochraceus</i> ; <i>A. niger</i> ; <i>A. carbonarius</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Legumes, grapes, cereals, coffee beans, dried vine fruit, wine, grapes / Rośliny strączkowe, winogrona, zboża, ziarna kawy, suszone owoce winorośli, wino, winogrona
Patulin / Patulina	<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. patulum</i> and other spp. from the genera <i>Aspergillus</i> and <i>Byssochlamys</i>	Apples, grapes, pears, other fruits / Jabłka, winogrona, gruszki i inne owoce
Trichothecenes / Trichoteceny	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. poae</i> and spp. from the genera <i>Myrothecium</i> , <i>Phomopsis</i> , <i>Tricoderma</i> , <i>Trichothecium</i>	Wheat, maize, barley, oats / Pszenica, kukurydza, jęczmień, owies
Zearalenone / Zearalenon	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. cerealis</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. semitectum</i>	Cereals, cereal products, maize, wheat, barley, sorghum / Cereals, cereal products, maize, wheat, barley, sorghum

Explanatory notes/ Objasnienia:

authors' elaboration based on literature [3, 6, 27, 40, 44] / opracowanie autorskie na podstawie literatury [3, 6, 27, 40, 44]

Heat treatment, especially acidic foods, usually destroy fungi. However, the ascospores of some species, such as *Byssochlamys nivea*, are resistant and can spoil fruit purees or juices [73]. Fungal spoilage is a serious and costly problem for bakeries. Fungal spores are generally killed by the baking process in fresh bread and other baked product. This means that all spoilage problems caused by fungi must occur after baking. Therefore, for bread to become mouldy, it must be contaminated from bakery surfaces, equipment, air or raw ingredients after baking during the cooling, slicing or

packing operations [19]. Another significant problem in baking is the mycotoxin contamination of flour. As mycotoxins are temperature stable, they do not degrade significantly after baking [3]. Fungi also commonly contaminate meat and meat products. They can cause spoilage and produce mycotoxins, making meat dangerous for consumption. Nasser [42] found fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* in canned beef and poultry samples. Xerophilic *Aspergillus*, *Eurotium* and *Penicillium* species tolerate low pH and high salt concentrations, which is why they can grow on the surface of dry-cured meat products [40]. Plavsic et al. [53] detected *Penicillium aurantiogriseum* and *Penicillium commune* in dry-smoked meat products. Alía et al. [2] listed *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium herbarum* as causes of black spots on dry-cured ham, and Lozano-Ojalvo et al. [36] reported that *Cladosporium oxysporum* formed black spots on dry-cured fermented sausages. Fungi can also spoil dairy products. In some cases, moulds are identified on the surface of the product, while in others, they form metabolites causing off-odours, discolouration, and an altered consistency [20]. Cheeses are most often contaminated by *Penicillium* spp. They convert sorbic acid and potassium sorbate to trans-1,3-pentadiene, thus, leading to a „kerosene” off-odor [70].

Fungus prevention and removal of mycotoxins from raw materials

There are two main strategies for reducing the presence of fungi and mycotoxins in food: (a) preventing contamination before and after harvest; (b) detoxification of mycotoxins present in raw materials [51]. Most of the mycotoxins found in food are already synthesized during plant growth in the field. Preventing the production of fungal toxins requires appropriate preventive measures, which consist of appropriate treatment of the raw material already during vegetation, and then during harvesting, transport, storage and processing [27]. Such preventive actions include: selection of appropriate varieties resistant to fungal infections; minimizing the exposure of plants to stress, e.g. lack of water; careful use of plant protection products; the use of insecticides and herbicides; timely harvest; avoiding mechanical damage and soil contamination; appropriate soil management (plowing) to remove, destroy or bury infected crop residues; crop rotation; and proper storage of raw materials in appropriate temperature and humidity conditions [37].

Unfortunately, it is not always possible to minimize the production of toxins by mould fungi. If the raw materials are contaminated with mycotoxins, they should be decontaminated. There are several methods with varying degrees of practical use: mechanical separation of contaminated grains (sorting); use of physical factors, e.g. high temperature, UV or gamma radiation; application of chemical agents, e.g. ammonia, H₂O₂; and biological methods [54]. Effective reduction of food contamination with mycotoxins is one of the most difficult tasks of modern food processing and technolo-

gy. Chemical and physical decontamination methods may have product safety limitations or negatively affect product quality. Due to these limitations, the interest in microorganisms as detoxifying agents has been recently increasing. Currently, scientific research is focused on searching for organisms that can be used in biotechnological processes during the production of e.g. fermented food, where the raw material may be contaminated with mycotoxins. Such microorganisms can be found among lactic acid bacteria and yeast, which are widely used in food production. In addition to appropriate technological features, they have the ability to reduce the content of toxins, making the final product safer for the consumer [51].

Decontamination of mycotoxin-containing food by microbial binding is a very diverse process that depends on many factors, including the strain used, the physiological state of the cells, environmental conditions, and the initial concentration of the toxin. Yeasts are able to detoxify mycotoxins in different ways: bioadsorption, biodegradation, or the inhibition of mycotoxin production [43]. It has been suggested that adsorption to the cell surface is the main mechanism responsible for removing toxins produced by fungi. Many authors have described this ability in live yeasts and yeasts inactivated by exposure to a high temperature or an acid. It has even been reported that mycotoxins can be bound by prepared cell walls [48]. One of the most promising features of yeasts applied against mycotoxins is biodegradation. Literature reports demonstrate that some yeasts can break down toxins into less toxic or even non-toxic substances. Vekiru et al. [75] demonstrated that *Trichosporon mycotoxinovorans* could convert zearalenone into a non-estrogenic ZOM-1 product. This metabolite did not show estrogenic activity, even at a concentration 1000-fold higher than that of zearalenone, and did not interact with the human estrogen receptor *in vitro*. Schatzmayr et al. [62] reported that yeasts from the genus *Trichosporon*, *Rhodotorula*, and *Cryptococcus* spp. were able to split the amide bond of the ochratoxin molecule and release non-toxic ochratoxin α (OT α). Yeasts can also produce metabolites that have a significant suppressing effect on the expression of genes related to mycotoxin biosynthesis [50].

Role of antagonistic microorganisms in ensuring food safety

Biological control of pathogenic fungi and the mycotoxins produced by them is considered a safe method and, as such, is gaining popularity in the food industry [44]. This method uses microorganisms or their antimicrobial metabolites in order to extend the shelf-life of food products and increase food safety [41]. Most of the research on antagonistic microorganisms and their applicability in food technology is focused on lactic acid bacteria (LAB). Many species of these bacteria have GRAS (Generally Recognized As Safe) status, established by the Food and Drug Administration (FDA), as well as QPS (Qualified Presumption of Safety) status, established by the European

Food Safety Authority (EFSA). Lactic acid bacteria are widely used not only in the food industry but also in animal production, including as feed additives or silage preparations [22], and in agriculture as safe and effective biological agents for combating bacterial and fungal phytopathogens. The mechanism of their action is the production of lactic and acetic acids, bacteriocins, reuterin and other antimicrobial compounds, as well as the removal of reactive oxygen species [33]. In recent years, scientists' interest has also concentrated on the search for microorganisms other than LAB, capable of inhibiting the growth of pathogenic microorganisms. More and more scientific reports concern the use of yeast occurring naturally in the environment. Finding yeast strains that synthesize antifungal compounds and have the ability to lower the mycotoxin content would make it possible to extend the shelf life of food products and improve their quality [4, 55].

Microorganisms antagonistic to pathogens should exhibit a number of characteristics, such as rapid growth, a greater ability to survive and develop than the pathogen, effectiveness against a wide range of pathogens, ability to survive in adverse environmental conditions, effectiveness at low concentrations, and genetic stability; they should also be nutritionally undemanding, safe for consumers and should not produce metabolites that are toxic to humans [65]. It is often difficult to select a strain with a broad spectrum of activity against many pathogens. Therefore, compatible strains are sought to ensure the necessary differentiation of action [55]. The use of a mixture of antagonists has certain advantages: it increases their effectiveness, broadens the spectrum of their activity, and allows to combine of various biological features without passing foreign genes through genetic transformation. The absence of antagonism between components of an antagonist mixture must also be ensured in choosing those microorganisms. The selection of components which show mutually beneficial interactions (mutualism) allows for making more effective use of their antagonistic potential [65].

Mechanisms of antagonistic yeast action

The main mechanisms of yeast action that play a key role in the biological control of pathogenic fungi are (a) competition for nutrients and space; (b) secretion and release of antimicrobial compounds, such as killer toxins and volatile organic compounds (VOCs), and (c) secretion of enzymes that degrade the fungal cell wall. The mechanisms of yeast action on fungi are usually used simultaneously, thus enhancing the antagonistic effect [11, 41].

Competition for nutrients and space

Competition for nutrients and space is considered one of the main mechanisms of antagonistic yeast action, as it involves the nutritional requirements of both the antago-

nist and the pathogen. These two types of competition are commonly considered together without assigning an appropriate level of significance to each [55]. Antagonistic yeast can effectively fight pathogenic fungi by outgrowing their mycelium, especially if applied before the appearance of the pathogen. Yeast quickly depletes glucose, fructose or sucrose, preventing the growth of undesirable microorganisms, a method that has been used in the fermentation of foods and beverages involving *S. cerevisiae* [41, 71]. Competition for sugars has also been demonstrated between the yeast *Candida valida*, *Rhodotorula glutinis* and *Trichosporon asahii*, all of which have the ability to colonize sugar beet roots, and the pathogen *Rhizoctonia solani* [16]. Competition for nitrogen compounds, especially in the carbon-rich environment of fruit wounds, has been reported for the species *Candida guilliermondii* against *P. expansum* [63]. The results obtained by Zhang et al. [76] also indicate that competition for nutrients played a significant role in the biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* PL5 against *M. laxa*, *B. cinerea*, and *P. expansum*. The ability of *A. pullulans* PL5 to inhibit the growth of pathogen mycelium was significantly better when co-cultured with pathogens on a medium with a lower nutrient concentration. A specific example of inhibition of fungal growth by yeast is competition for iron, which is necessary for the proper functioning of cells. This mechanism is based on the synthesis of siderophores, compounds chelating iron ions from an environment poor in this element, which, when chelated, are unavailable to pathogenic microbes [71].

Production of antifungal metabolites and volatile compounds

Many microorganisms effectively affect other microbes by producing antibiotic agents. This, however, is not commonly observed in yeast. Some strains of *Pseudozyma fusiformata* have been found to secrete ustilaginic acid – a glycolipid active against various species of yeast and filamentous fungi [77]. The inhibitory effect of aureobasidin A produced by *A. pullulans* against the pathogens *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *M. fructicola*, *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. italicum* and *B. cinerea* has also been observed [8, 25, 35]. This antibiotic is an inhibitor of one of the key enzymes in the sphingolipid biosynthesis pathway, and its effects include morphological changes in mycelium and disturbances in the conidia maturation process [25].

Some yeast secretes killer toxins which can also be used to reduce pathogenic fungi. They are produced by the yeast *S. cerevisiae* and others of the genera *Kluyveromyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Torulopsis*, *Williopsis*, *Zygosaccharomyces*, and *Cryptococcus* [41, 64]. The mechanisms of action of killer toxins on fungi include inhibition of β -glucan synthesis or hydrolysis of β -glucan in the cell wall of susceptible strains, disruption of cell division by blocking DNA synthesis, tRNA cleavage, blocking calcium uptake, and ion leakage caused by the formation of channels in the cytoplasmic membrane [41]. Da Silva Portes et al. [66] showed that

killer toxins isolated from the yeast of the genus *Kluyveromyces* could be used in the biocontrol of the pathogenic fungi *P. expansum* and *A. ochraceus*, and that they exerted their action by inhibiting spore germination and limiting mycelium growth. The activity of the yeast *S. cerevisiae*, possibly related to its ability to secrete killer toxins, was also used to control the toxigenic fungi *A. flavus* and *A. parasiticus* [49]. The yeast *D. hansenii* and *Wickerhamomyces anomalus* showed killer activity against fungi from the genus *Monilinia*, which cause moniliosis, also known as brown rot. Grzegorzczak et al. [21] demonstrated that the infestation of peaches and plums with *M. fructicola* was reduced after applying the yeast *W. anomalus* BS91 to the infection site.

Among a wide range of antimicrobial molecules, VOCs are currently attracting the attention of scientists because of the advantages of their potential application. VOCs typically consist of a mixture of volatile metabolites that can exert strong inhibitory activity against other organisms. Their potent bioactivity, along with the lack of reports of significant effects on consumer health and the environment, has prompted the development of research on the subject [47]. Fernandez San Millan et al. [18] identified several new antifungal compounds produced by the yeast *M. pulcherrima*, with 3-amino-5-methylhexanoic acid, biphenyl-2,3-diol and sinapaldehyde showing the greatest activity (with reductions of up to 90 ÷ 100 % in tomato and apple infections by *B. cinerea*). Núñez et al. [45] demonstrated that the yeast isolate **Debaryomyces hansenii** produced 2-methyl-1-butanol, other volatiles, and unidentified diffusing molecules, which were active against *P. verrucosum*, a spoilage fungus from dry-cured ham.

Production of lytic enzymes

The cell wall of filamentous fungi is a complex made of numerous polymers, including β -1,3- β -1,6-glucan, chitin, proteins and lipids. It is a very dynamic structure which undergoes constant changes, e.g. during morphogenesis, cell division or growth, and is slightly different for different species of fungi [10]. Yeasts produce hydrolytic enzymes, especially chitinases, β -1,3-glucanases and proteases, which can degrade cell wall polymers, thus providing an effective means for biocontrol phytopathogenic fungi [11]. Chitinases not only allow efficient degradation of the cell wall of plant pathogens but can also stimulate natural plant immune processes by degrading chitin and producing chitooligosaccharides [28]. The ability to produce lytic enzymes has been demonstrated in many yeast species including *M. guilliermondii*, *Cyberlindnera saturnus*, *R. glutinis*, *Candida shehatae*, *C. tropicalis*, *C. fluviatilis*, *P. anomala*, *P. membrani-faciens*, *Cryptococcus laurentii*, *C. carnescens*, *A. pullulans*, *T. albescens*, *T. pallescens* [17, 55].

Yeast in bioconservation of food and beverages

The discovery of the mechanisms of the antagonistic action of yeasts against fungal pathogens and their ability to remove mycotoxins is of great importance to many branches of the food industry. The quality of products such as bread, cold cuts, cheese, wine and beer is directly related to the growth of spoilage microorganisms. The use of antagonistic yeasts or their antimicrobial metabolites may contribute to increasing the safety and shelf life of food by inhibiting the growth of pathogens [59].

The most commonly used yeast in the food industry is *S. cerevisiae*. This species has gained its "popularity" in the food industry mainly due to its ability to tolerate a wide range of stress conditions in the conversion processes, especially ethanol, osmotic and oxidative stress while demonstrating very efficient fermentation performance [9]. As an ingredient of leaven, *S. cerevisiae* has been used for centuries for baking bread and cakes. Carbon dioxide, released in large volumes during the fermentation, the yeast carries out, loosens and raises the dough. In brewing, this yeast is used in the production of beer, with the two most common strains being the top-fermenting yeast *S. cerevisiae* var. *cerevisiae* and the bottom-fermenting *S. cerevisiae* spp. *uvarum* var. *carlsbergensis*. Molasses distillation uses many strains of *S. cerevisiae* obtained from scientific institutes or isolated in various distilleries and adapted for industrial purposes. Their main features include the ability to quickly and dynamically produce alcohol and the ability to resist a 10 ÷ 12 % alcohol concentration, and the high osmotic pressure caused by the presence of sugar and inorganic substances in molasses. They are also resistant to the action of organic acids such as tartaric, malic, citric and other non-volatile acids [32, 57].

S. cerevisiae, in addition to the appropriate technological characteristics, has antagonistic properties against pathogenic bacteria and fungi and the ability to reduce the content of toxins. Soboleva et al. [69] found that *S. cerevisiae* RCAM 01730, when used in bread baking, inhibited the growth of undesirable bacteria. This isolate also accelerated the production of gas, intensifying the maturation of the dough and improving the organoleptic properties of the finished bread. *S. cerevisiae* has been proven to have detoxification properties towards mycotoxins such as aflatoxin B1, deoxynivalenol, fumonisins, T-2 toxin and zearalenone [13]. The results obtained by Piotrowska and Masek [52] indicate that polysaccharide components of the yeast *S. cerevisiae* cell wall are responsible for the adsorption of ochratoxin A. This phenomenon may find applications in industry, such as in oenology or as dietary supplements for humans and animals. Literature reports indicate that yeasts other than *S. cerevisiae* are also effective in reducing the occurrence of mycotoxins. Var et al. [74] demonstrated that a *C. famata* strain removed about 30 % of ochratoxin A from wine. Reduction of the deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone by selected non-conventional yeast strains (*C.*

shehatae, *C. fluvialtilis*, *C. tropicalis*, *R. glutinis*, *C. carnescens*, *C. saturnus*) in wheat grains and bread was demonstrated in a study by Podgórska-Kryszczuk et al. [56].

Currently, more and more research is focusing on applying non-conventional yeast strains in food technology. The great potential of various non-*Saccharomyces* yeasts species in the modern baking industry to increase the aromatic complexity of bread [5] and as potential leavening agents has been observed [78]. Such yeasts, by producing many aromatic secondary metabolites such as esters, aldehydes and ketones, can significantly affect the flavour profile of the finished product [72]. Timmermans et al. [72] studied the fermentation properties of non-conventional yeast strains from various food industries in the sweet dough with 14 % sucrose. The scientists showed that 22 non-conventional yeast strains were able to ferment in the sweet dough, and several strains produced more positive flavour compounds compared to the reference baker's yeast.

The literature indicates that using yeasts that produce killer toxins prevents the growth of wine spoiling bacteria and yeast [14]. Killer toxins secreted by *Tetrapisispora phaffii* (former *Kluyveromyces phaffii*) are potent inhibitors of *Hanseniaspora uvarum*, which is why they may have biopreserving properties potentially useful for the wine industry [61]. Comitini et al. [14] noted that the glycosylated 33 KDa protein produced by *K. phaffii* bound β -1,3-glucan, leading to the formation of pores in the cell walls of the wine-spoiling yeast. Scientists also showed that the killer toxins secreted by *W. anomalus* and *Kluyveromyces wickeramii* inhibited the growth of *Dekkera* and *Brettanomyces* – odor-causing yeasts found in wine. Yeasts that produce killer toxins can also be used in the production of beer and sake [41], in the dairy sector to prevent deterioration of cheese and yoghurt [34], in olive fermentation [24], and in the production of salted fermented foods such as salted vegetables and miso [12]. The main factors to consider when using killer toxins in food processes are the pH and the temperature range at which they exhibit a high activity, as inappropriate conditions can limit their effectiveness, especially in the food fermentation processes. Although there are large differences in the pH and temperature conditions under which the toxins are active, they all exhibit optimal activity between pH values of 4.0 and 5.4 and at temperatures below 30 °C [7]. Da Silva et al. [67], for example, isolated the killer toxin CnKT (*Candida nodaensis* Killer Toxin) from the extremely halotolerant yeast *Candida nodaensis*, which was active in the range of pH 2.6 ÷ 6 and temperatures from 18 to 30 °C.

Today, consumers prefer minimally processed products obtained through natural methods such as fermentation, so the consumption of fermented vegetables has increased by almost 60 %, mainly in developed countries. Most fermented products have a long stability and low production costs compared to other products with similar characteristics [29]. While yeasts are commonly present in traditionally fermented or acidi-

fied foods, there is little data on their isolates, with most research being focused on the presence of lactic acid bacteria. Lazar et al. [30] isolated yeasts naturally occurring in sauerkraut, cucumber pickles and fermented vegetable mixtures. Strains of the species *S. cerevisiae* and *Y. lipolytica* turned out to be the dominant ones, constituting 38.7 % and 25.6 % of the total number of isolates, respectively. Strains belonging to the species *Pichia etchellsii*, *P. ohmerii*, *Candida holmii*, *C. pelliculosa*, and *Shizosaccharomyces japonicus* were also isolated from the pickled products. Large amounts of traditionally fermented foods and drinks are produced in African, Asian and South American countries from raw materials such as corn, wheat, cassava, rice, soybeans and various fruits. Fermentation is essential to the quality and safety of these products. The participation of bacteria and yeast also has a significant impact on food parameters such as taste, texture, smell and nutritional value [1, 26]. Selected yeasts can also be used as antifungal agents in dry-fermented foods to inhibit the growth of pathogenic fungi. Their ability to compete for nutrients and space with fungi as well as to produce antifungal metabolites such as volatile compounds and proteins, explains their antifungal properties [15].

Conclusions

1. The growing demand for "clean label", less processed food products with high safety and quality levels and a long shelf-life, prompts scientists to develop new food preservation methods. The increasing consumer requirements and competitiveness force manufacturers to use high quality agricultural raw materials and produce high quality products.
2. Yeast can contribute to the safety of food products by inhibiting the growth of undesirable pathogens, through various mechanisms of action, during the fermentation process. Unfortunately, most studies on the use of antagonistic yeast against toxicogenic fungi are laboratory scale investigations due to the short list of GRAS/QPS yeasts that are unequivocally recognized as safe for use in food production.
3. Current research on the activity of microorganisms involved in the removal of mycotoxins is mainly of scientific importance. It provides a better understanding of strains, their properties and the mechanisms of the processes taking place. Further research is needed to identify strains that could be used in the industry without compromising consumer safety.

References

- [1] Aidoo K.E., Nout R.M.J., Sarkar P.K.: Occurrence and Function of Yeasts in Asian Indigenous Fermented Foods. *FEMS Yeast Res.*, 2006, 6 (1), 30-39.

- [2] Alía A., Andrade M.J., Rodríguez A., Reyes-Prieto M., Bernáldez V., Córdoba J.J.: Identification and control of moulds responsible for black spot spoilage in dry-cured ham. *Meat Sci.*, 2016, 122, 16-24.
- [3] Alshannaq A., Yu J. H.: Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International J. Environ. Res. Public Health*, 2017, 14(6), #632.
- [4] Angioni, A., Caboni P., Garau A., Farris A., Orro D., Budroni M., Cabras P.: In vitro interaction between ochratoxin a and different strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 2007, 55(5), 2043-2048.
- [5] Aslankoohi E., Herrera-Malaver B., Naser Rezaei M., Steensels J., Courtin C.M., Verstrepen K.J.: Non-conventional yeast strains increase the aroma complexity of bread. *PLoS ONE*, 2016, 11(10), 1-18.
- [6] Awuchi C.G., Ondari E.N., Nwozo S., Odongo G.A., Eseoghene I. J., Twinomuhwezi H., Ogbonna C.U., Upadhyay A.K., Adeleye A.O., Okpala C.O.R.: Mycotoxins' toxicological mechanisms involving humans, livestock and their associated health concerns: a review. *Toxins*, 2022, 14(3), 1-33.
- [7] Baeza M.E., Sanhueza M.A., Cifuentes V.H.: Occurrence of killer yeast strains in industrial and clinical yeast isolates. *Biol. Res.*, 2008, 41, 173-182.
- [8] Bencheqroun S.K., Bajji M., Massart S., Labhilili M., Jaafari S.E., Jijakli M.H.: In vitro and in situ study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biol. Technol.*, 2007, 46(2), 128-135.
- [9] Binati R.L., Salvetti E., Bzducha-Wróbel A., Bašinskiienė L., Cizeikiienė D., Bolzonella D., Felis G.E.: Non-conventional yeasts for food and additives production in a circular economy perspective. *FEMS Yeast Res.*, 2021, 21(7), 1-18.
- [10] Brauer V.S., Pessoni A.M., Freitas M.S., Cavalcanti-Neto M.P., Ries L.N.A., Almeida F.: Chitin biosynthesis in *Aspergillus* species. *J. Fungi*, 2023, 9(1), #89.
- [11] Canito A.Di, Mateo-Vargas M.A., Mazzieri M., Cantoral J., Foschino R., Cordero-Bueso G., Vigentini I.: The role of yeasts as biocontrol agents for pathogenic fungi on postharvest grapes: a review. *Foods*, 2021, 10(7), 1-15.
- [12] Champagne C.P., Savard T., Beaulieu C.: A potential killer yeast to control secondary fermentation in vegetables. *J. Food Microbiol.*, 2017, 1(1), 14-21.
- [13] Chlebicz A., Ślizewska K.: In vitro detoxification of aflatoxin B1, deoxynivalenol, fumonisins, T-2 toxin and zearalenone by probiotic bacteria from genus *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 2020, 12(1), 289-301.
- [14] Comitini F., Ingeniis De J., Pepe L., Mannazzu I., Ciani M.: *Pichia anomala* and *Kluyveromyces wickerhamii* killer toxins as new tools against *Dekkera/Brettanomyces* spoilage yeasts. *FEMS Microbiol. Let.*, 2004, 238(1), 235-240.
- [15] Delgado J., Owens R. A., Doyle S., Asensio M. A., Núñez F.: Antifungal proteins from moulds: analytical tools and potential application to dry-ripened foods. *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 2016, 100(16), 6991-7000.
- [16] El-Tarabily K.A.: Suppression of *Rhizoctonia solani* diseases of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeasts. *J. Applied Microbiol.*, 2004, 96(1), 69-75.
- [17] El-Tarabily, K.A., Sivasithamparam K.: Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycoscience*, 2006 47(1), 25-35.
- [18] Fernandez San Millan A., Gamir J., Farran I., Larraya L., Veramendi J.: Identification of new antifungal metabolites produced by the yeast *Metschnikowia pulcherrima* Involved in the biocontrol of postharvest plant pathogenic fungi. *Postharvest Biol. Technol.*, 2022, 192, 111995.

- [19] Garcia M.V., Bernardi A.O., Parussolo G., Stefanello A., Lemos J.G., Copetti M.V.: Spoilage fungi in a bread factory in Brazil: diversity and incidence through the bread-making process. *Food Res. Int.*, 2019, 126, #108593.
- [20] Garnier L., Valence F., Mounier J.: Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: an update. *Microorganisms*, 2017, 5(3), #42.
- [21] Grzegorzczak M., Zarowska B., Restuccia C., Cirvilleri G.: Postharvest biocontrol ability of killer yeasts against *Monilinia fructigena* and *Monilinia fructicola* on stone fruit. *Food Microbiol.*, 2017, 61, 93-101.
- [22] Han H., Wang C., Huang Z., Zhang Y., Sun L., Xue Y., Guo X.: Effects of lactic acid bacteria-inoculated corn silage on bacterial communities and metabolites of digestive tract of sheep. *Fermentation*, 2022, 8 (7), 1-14.
- [23] Hermanussen H., Loy J. P., Egamberdiev B.: Determinants of food waste from household food consumption: a case study from field survey in Germany. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2022, 19(21), #14253.
- [24] Hernández A., Martín A., Córdoba M.G., Benito M.J., Aranda E., Pérez-Nevado F.: Determination of killer activity in yeasts isolated from the elaboration of seasoned green table olives. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, 121, 178-188.
- [25] Ippolito A., Schena L., Pentimone I., Nigro F.: Control of postharvest rots of sweet cherries by pre- and postharvest applications of *Aureobasidium pullulans* in combination with calcium chloride or sodium bicarbonate. *Postharvest Biol. Technol.*, 2005, 36(3), 245-252.
- [26] Jimenez M.E., Donovan C.M.O., De Ullivarri M.F., Cotter P.D.: Microorganisms present in artisanal fermented food from south America. *Front. Microbiol.*, 2022, 13 (941866), 1-18.
- [27] Kępińska-Pacelik J., Biel W.: Mycotoxins—prevention, detection, impact on animal health. *Processes*, 2021, 9(11), 1-17.
- [28] Kowalska J., Krzywińska J., Tyburski J.: Yeasts as a potential biological agent in plant disease protection and yield improvement – a short review. *Agriculture*, 2022, 12(9), #1404.
- [29] Lara-Hidalgo C., Hernández-Sánchez H., Hernández-Rodríguez C., Dorantes-Álvarez L.: Yeasts in fermented foods and their probiotic potential. *Austin J. Nutr. & Metabol.*, 2017, 4(4), 1045-1051.
- [30] Lazar Z., Piegza M., Walczak E., Barszczewski W., Robak M.: Mikroflora drożdżowa naturalnie fermentowanych warzyw. *Acta Scientiarum Polonorum, Biotechnologia*, 2013, 12(1), 19-36.
- [31] Leyva Salas M., Mounier J., Valence F., Coton M., Thierry A., Coton E.: Antifungal microbial agents for food biopreservation – a review. *Microorganisms*, 2017, 5(3), 1-35.
- [32] Lipińska E., Gniewosz M.: Zastosowanie drożdży w wybranych procesach biotechnologicznych. zastosowanie wybranych drobnoustrojów w biotechnologii żywności. Wydawnictwo SGGW, 2013.
- [33] Liu A., Xu R., Zhang S., Wang Y., Hu B., Ao X., Li Q.: Antifungal mechanisms and application of lactic acid bacteria in bakery products: a review. *Front. Microbiol.*, 2022, 13, #16.
- [34] Liu S. Q., Tsao M.: Biocontrol of dairy moulds by antagonistic dairy yeast *Debaryomyces hansenii* in yoghurt and cheese at elevated temperatures. *Food Control*, 2009, 20(9), 852-855.
- [35] Liu X., Wang J., Gou P., Mao C., Zhu Z. R., Li H.: In vitro inhibition of postharvest pathogens of fruit and control of gray mold of strawberry and green mold of citrus by aureobasidin A. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, 119 (3), 223-229.
- [36] Lozano-Ojalvo D., Rodríguez A., Cordero M., Bernáldez V., Reyes-Prieto M., Córdoba J.J.: Characterisation and detection of spoilage mould responsible for black spot in dry-cured fermented sausages. *MESC*, 2015, 100, 283-290.
- [37] Matumba L., Namaumbo S., Ngoma T., Meleke N., De Boevre M., Logrieco A. F., De Saeger S.: Five keys to prevention and control of mycotoxins in grains: a proposal. *Global Food Sec.*, 2021, 30, #100562.

- [38] Melini V., Melini F.: Strategies to extend bread and gf bread shelf-life: from sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. *Fermentation*, 2018, 4 (1), #9.
- [39] Mewa-Ngongang M., Ntwampe S. K. O., du Plessis H. W., Mekuto L., Jolly N. P.: Biopreservatives from yeasts with antimicrobial activity against common food, agricultural produce and beverage spoilage organisms. *Antimicrobial Research: Novel bioknowledge and educational programs*. Formatex Research Center, 2017.
- [40] Montanha F.P., Anater A., Burchard J.F., Luciano B., Meca G., Manyes L., Pimpão C.T.: Mycotoxins in dry-cured meats: a Review. *Food Chem. Toxicol.*, 2018, 111, 494-502.
- [41] Muccilli S., Restuccia C.: Bioprotective role of yeasts. *Microorganisms*, 2015, 3(4), 588-611.
- [42] Nasser L. A.: Molecular identification of isolated fungi, microbial and heavy metal contamination of canned meat products sold in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi J. Biol. Sci.*, 2015, 22 (5), 513-520.
- [43] Ndiaye S., Zhang M., Fall M., Ayessou N.M., Zhang Q., Li P.: Current review of mycotoxin biodegradation and bioadsorption: microorganisms, mechanisms, and main important applications. *Toxins*, 2022, 14(11), #729.
- [44] Nešić K., Habschied K., Mastanjević K.: Possibilities for the biological control of mycotoxins in food and feed. *Toxins*, 2021, 13(3), #198.
- [45] Núñez F., Lara M. S., Peromingo B., Delgado J., Sánchez-Montero L., Andrade M. J.: Selection and evaluation of *Debaryomyces hansenii* isolates as potential bioprotective agents against toxigenic *Penicillia* in dry-fermented sausages. *Food Microbiol.*, 2015, 46, 114-120.
- [46] Omiecich J.: Jakość i Bezpieczeństwo Żywności w Polsce. *Spółeczeństwo i Ekonomia*, 2016, 2(6), 123-134.
- [47] Oufensou S., Hassan Z. U., Balmas V., Jaoua S., Migheli Q.: Perfume guns: potential of yeast volatile organic compounds in the biological control of mycotoxin-producing fungi. *Toxins*, 2023, 15(1), #45.
- [48] Patharajan S., Reddy K.R.N., Karthikeyan V., Spadaro D., Lore A., Gullino M.L., Garibaldi A.: Potential of yeast antagonists on in vitro biodegradation of ochratoxin A. *Food Control*, 2011, 22(2), 290-296.
- [49] Person K., Raines J. M., Rodriguez J. M.: Antagonistic effects of *Saccharomyces cerevisiae* on the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* at varying temperatures. *Mycology*, 2013, 4(1), 38-43.
- [50] Pfliegler W. P., Pusztahelyi T., Pócsi I.: Mycotoxins - prevention and decontamination by yeasts. *Journal of Basic Microbiology*, 2015, 55(7), 805-818.
- [51] Piotrowska M.: Microbiological decontamination of mycotoxins: opportunities and limitations. *Toxins*, 2021, 13(11), #819.
- [52] Piotrowska M., Masek A.: *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components as tools for ochratoxin a decontamination. *Toxins*, 2015, 7(4), #1151.
- [53] Plavsic D., Okanovic D., Gubic J., Njezic Z.: Microbiological and chemical evaluation of dried smoked meat product. *Procedia Food Sci.*, 2015, 5, 239-242.
- [54] Podgórska-Kryszczuk I.: Mikotoksyny – ograniczanie ich występowania i wybrane metody dekontaminacji. *Przemysł Chemiczny*, 2022, 101(8), 587-590.
- [55] Podgórska-Kryszczuk I., Solarzka E., Kordowska-Wiater M.: Biological control of *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* by antagonistic yeasts. *Pathogens*, 2022, 11(1), #86.
- [56] Podgórska-Kryszczuk I., Solarzka E., Kordowska-Wiater M.: Reduction of the *Fusarium* mycotoxins: deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone by selected non-conventional yeast strains in wheat grains and bread. *Molecules*, 2022, 27(5), #1578.
- [57] Podgórska I., Solarzka E.: Wykorzystanie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w zabezpieczeniu procesów fermentacyjnych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2016, 1(3), 28-29.

- [58] Regulation EC. 2008. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Food Additives.
- [59] Riesute R., Salomskiene J., Moreno D. S., Gustiene S.. 2021. Effect of yeasts on food quality and safety and possibilities of their inhibition. Trends Food Sci. Technol., 2021, 108, 1-10.
- [60] Rizwana E. S. R., Aparajita C. L. G., Prateek K.: Food additives and hypersensitivity: a review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sci., 2021, 10(2), 1697-1717.
- [61] Schaffrath R., Meinhardt F., Klassen R.: Yeast killer toxins: fundamentals and applications. The Mycota, 87-118. Springer International Publishing, 2018.
- [62] Schatzmayr G., Heidler D., Fuchs E., Nitsch S., Mohnl M., Täubel M., Loibner A. P., Braun R., Binder E. M.: Investigation of different yeast strains for the detoxification of ochratoxin A. Mycotoxin Research, 2003, 19(2), 124-128.
- [63] Scherm B., Ortu G., Muzzu A., Budroni M., Arras G., Migheli Q.: Biocontrol activity of antagonistic yeasts against *Penicillium expansum* on apple. Journal of Plant Pathology, 2003, 85(3), 205-13.
- [64] Schmitt M. J., Breinig F.: Yeast viral killer toxins: lethality and self-protection. Nature Reviews. Microbiology, 2006, 4(3), 212-221.
- [65] Sharma R. R., Singh D., Sing R.: Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. Biological Control, 2009, 50(3), 205-221.
- [66] Silva Portes C. da, de Oliveira A. V., Simer P., Lunkes A. M., Coelho A. R.. Role of killer factors in the inhibitory activity of bio-control yeasts against *Penicillium expansum* and *Aspergillus ochraceus*. Brazilian Archiv. Biol. Technol., 2013, 56(4), 619-627.
- [67] Silva S. da, Calado S., Lucas C., Aguiar C.: Unusual properties of the halotolerant yeast *Candida nodaensis* Killer Toxin, CnKT. Microbiol. Res., 2008, 163(2), 243-251.
- [68] Snyder A. B., Worobo R. W.: Fungal spoilage in food processing. J. Food Prot., 2018, 81(6), 1035-1040.
- [69] Soboleva E., Sergachyova E., Davydenko S.G., Meledina T.V.: Influence of yeast strains on microbiological stability of wheat bread. Int. J. Biol., Biomol., Agricul., Food and Biotechnol. Engin., 2016, 10(2), 68-72.
- [70] Sokolowska B., Połaska M., Dekowska A., Woźniak Ł., Roszko M.: Degradation of preservatives with the formation of off-odor volatile compounds – the case of strawberry-flavored bottled sater. Beverages, 2020, 6(4), #67.
- [71] Spadaro D., Droby S.: Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. Trends Food Sci. Technol., 2016, 47, 39-49.
- [72] Timmermans E., Langie I., Bautil A., Brijs K., Buv C., Loey A. V., Scheirlinck I., Van Der Meulen R., Courtin C. M.: Study of the fermentation characteristics of non-conventional yeast strains in sweet sough. Foods, 2023, 12(4), #830.
- [73] Ulusoy B. H., Hamed N. S., Yıldırım F. K.. Heat-resistant moulds: assessment, prevention and their consequences for food safety and public health. Czech J. Food Sci., 2022, 40(4), 273-80.
- [74] Var I., Erginkaya Z., Kabak B.. Reduction of ochratoxin A levels in white wine by yeast treatments. J. Inst. Brew., 2009, 115(1), 30-34.
- [75] Vekiru E., Hametner C., Mitterbauer R., Rechthaler J., Adam G., Schatzmayr G., Krska R., Schuhmacher R.: Cleavage of zearalenone by trichosporon mycotoxinivorans to a novel nonestrogenic metabolite. Applied Environ. Microbiol., 2010, 76(7), #2353.
- [76] Zhang D., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M. L.: Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action. Biol. Control, 2010, 54(3), 172-80.


- [77] Zhang D., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M.L.: Selection and evaluation of new antagonists for their efficacy against postharvest brown rot of peaches. *Postharvest Biol. Technol.*, 2010, 55(3), 174-181.
- [78] Zhou N., Schifferdecker A. J., Gamero A., Compagno C., Boekhout T., Piškur J., Knecht W.: *Kazachstania gamospora* and *Wickerhamomyces subpelliculosus*: Two alternative baker's yeasts in the modern bakery. *I. J. Food Microbiol.*, 2017, 250, 45-58.

DROŹDŹE JAKO ALTERNATYWNA METODA ZWALCZANIA GRZYBÓW W PRZEMYSŁE SPOŻYWCZYM

Streszczenie

Wprowadzenie. Jakość produktu końcowego w branżach, takich jak piekarnictwo, winiarstwo, brodawnictwo oraz w przemyśle mięsnym i serowarskim często pogarsza się z powodu rozwoju drobnoustrojów powodujących psucie się żywności. Grzyby strzępkowe i ich toksyczne metabolity, znane jako mikotoksyny, należą do czynników, które w znacznym stopniu obniżają jakość żywności i poważnie zagrażają jej bezpieczeństwu. Mikotoksyny powodują biochemiczne, fizjologiczne i patologiczne zmiany w organizmach żywych, a działanie toksyczne wykazują już nawet w niskich stężeniach. Zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności stwarzane przez patogenne grzyby i ich toksyczne metabolity skłania do poszukiwania nowych sposobów na ograniczenie ich przedostawania się do łańcucha pokarmowego.

Wyniki i wnioski. W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono metodom biokonserwacji. Biokonserwacja odnosi się do wydłużenia okresu przydatności do spożycia i zwiększenia bezpieczeństwa żywności przy użyciu rodzimych lub dodanych mikroorganizmów oraz ich metabolitów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Kultury starterowe drożdży antagonistycznych w stosunku do grzybów toksynotwórczych mogą przyczynić się do zwiększenia bezpieczeństwa produktu, głównie poprzez hamowanie wzrostu patogenów podczas fermentacji i poprawę stabilności tego procesu. Niniejszy przegląd opisuje główne problemy związane z występowaniem grzybów strzępkowych w przemyśle spożywczym oraz strategię ograniczania ich obecności i produkowanych przez nie mikotoksyn w żywności. W szczególności skupiono się na wykorzystaniu drożdży jako mikroorganizmów przeciwgrzybiczych testowanych pod kątem bioochrony żywności oraz na mechanizmach ich działania.

Słowa kluczowe: biokonserwacja, biokontrola, bezpieczeństwo żywności, zwalczanie grzybów, mykotoksyny 

ROBERT GAJDA, MAŁGORZATA SOBIESZCZAŃSKA, ŁUKASZ NOCULAK,
MAŁGORZATA SZYMALA-PĘDZIK, MONIKA MAĆKÓW,
BEATA KACZMAREK-WDOWIAK

ZWIĄZEK CZYNNIKÓW RYZYKA ŻYWIENIOWEGO, CECH DEMOGRAFICZNYCH I STATUSU SOCJO-EKONOMICZNEGO W BADANEJ GRUPIE OSÓB STARSZYCH ZAMIESZKUJĄCYCH SPOŁECZNOŚĆ LOKALNĄ W POLSCE

Streszczenie

Wprowadzenie. Znaczny odsetek osób starszych w Polsce doświadcza wysokiego ryzyka żywieniowego, które determinowane jest przez różne czynniki. Celem pracy była ocena związku czynników ryzyka żywieniowego, wybranych cech demograficznych oraz statusu socjo-ekonomicznego. Do identyfikacji czynników ryzyka żywieniowego zastosowano kwestionariusz SCREEN-14. W celu charakterystyki demograficznej zastosowano pytania dotyczące płci, wieku, regionu zamieszkania, miejsca zamieszkania oraz struktury osobowej gospodarstwa domowego. Status socjo-ekonomiczny oceniono na podstawie pytań dotyczących samooceny sytuacji materialnej, wykształcenia, aktywności społecznej oraz relacji rodzinnych. Na podstawie analizy skupień z wykorzystaniem hierarchicznej klasyfikacji zmiennych metodą Warda wyłoniono dwa skupienia czynników ryzyka żywieniowego. W celu weryfikacji różnic między zmiennymi zastosowano test χ^2 . Do oceny związku między zmiennymi zastosowano analizę regresji logistycznej.

Wyniki i wnioski. Wykazano, że osoby przynależne do skupienia 1, opisanego jako: “Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe” częściej zamieszkiwały małe miasta, samotnie lub z partnerem, ale bez rodziny. Osoby przynależne do skupienia 2, opisanego jako “Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne” częściej charakteryzowały się wysokim ryzykiem żywieniowym, częściej były w wieku 75 lat i więcej, zamieszkiwały samotnie lub z rodziną (z partnerem lub bez) Do tego skupienia przynależeli także badani z niskim statusem socjo-ekonomicznym. Decydenci w planowaniu polityki zdrowia publicznego powinni uwzględnić dane

Dr inż. R. Gajda, ORCID: 0000-0001-7957-918X, Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław; prof. dr hab. M. Sobieszkańska, ORCID: 0000-0003-4374-9866; lek. Ł. Nocolak; lek. M. Szymala-Pędzik, ORCID: 0000-0002-2086-1698, Katedra i Klinika Geriatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. T. Chalbińskiego 1a, 50-368 Wrocław; mgr M. Maćków, ORCID: 0000-0003-3961-7609; dr B. Kaczmarek-Wdowiak, ORCID: 0000-0001-9731-0379, Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław. Kontakt: e-mail: robert.gajda@upwr.edu.pl

i wskaźniki dotyczące ryzyka żywieniowego i jego uwarunkowań, aby zwiększyć skuteczność działań mających na celu ograniczenie negatywnych zmian w zdrowiu i jakości życia osób starszych.

Słowa kluczowe: ryzyko żywieniowe, cechy demograficzne, status socjo-ekonomiczny, osoby starsze

Wprowadzenie

Praktycznie we wszystkich krajach świata obserwuje się tendencję do wzrostu udziału osób starszych oraz wydłużenia ich życia [7]. Zgodnie z informacją o wynikach Narodowego Spisu Powszechnego Ludności i Mieszkań w Polsce w 2021 roku, udział ludności w wieku poprodukcyjnym (60-65 lat i więcej) stanowił 22,8 % [49]. Znaczny odsetek tej grupy osób zamieszkiwał społeczność lokalną. Jedynie 3,4 % populacji osób starszych zamieszkiwało stacjonarne domy opieki społecznej [49, 82].

Pomimo że wydłużenie życia jest pozytywnym zjawiskiem, to wraz z wiekiem skutkuje wzrostem liczby osób starszych zagrożonych ryzykiem różnych chorób i niepełnosprawności [54]. Najnowsze populacyjne badanie tej grupy osób w Polsce (PolSenior2 – Badanie poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem) wskazuje, że nie tylko wiek, ale również inne czynniki demograficzne, socjoekonomiczne i stan funkcjonalny w zakresie podstawowych, jak i złożonych czynności dnia codziennego decydują o stanie zdrowia. Niższe wykształcenie, owdowienie, zamieszkanie w regionach wschodnich Polski, gorsza sytuacja materialna oraz gorszy stan funkcjonalny są czynnikami wpływającymi na deklarowanie gorszego stanu zdrowia [73]. Nie wykazano takiego zróżnicowania ze względu na płeć i miejsce zamieszkania. Jedynie wcześniejsze polskie badania informowały, że taka sytuacja częściej dotyczyła kobiet niż mężczyzn oraz mieszkańców wsi niż miast [6].

Ryzyko żywieniowe to czynniki prowadzące do problemów żywieniowych [15, 78]. Definicje ryzyka żywieniowego i ryzyka niedożywienia są nadal mylone, pomimo niedawnego konsensusu w sprawie definicji niedożywienia opracowanego na potrzeby ESPEN (European Society for Clinical Nutrition and Metabolism). O ile ryzyko niedożywienia odnosi się do antropometrycznych, funkcjonalnych i żywieniowych parametrów niedożywienia, o tyle ryzyko żywieniowe jest pojęciem bardziej ogólnym i odnosi się do problemów związanych jedynie ze spożyciem żywności i sposobem żywienia. Brak możliwości wyeliminowania tych problemów może w efekcie zwiększyć ryzyko niedożywienia [60]. Ryzyko żywieniowe może mieć związek z niedoborami białkowymi oraz witaminowo-mineralnymi. Stanowią one poważny problem kliniczny, psychospołeczny i ekonomiczny w tej grupie wiekowej [30]. Dane z badania PolSenior2 wykazały, że nadmierna masa ciała dotyczyła 77,0 % [10], a niedożywienie – 3,2 % osób starszych i znacznie wrosłało z wiekiem [42]. Badania przesiewowe w kierunku ryzyka żywieniowego są realizowane w wielu krajach [51, 55, 67] i mogą przyczynić

się do identyfikacji zagrożeń zdrowia, ich skutecznego leczenia oraz stanowić element świadczenia usług medycznych i społecznych [55, 66]. Początkowo narzędzia przesiewowe oceny żywieniowej dotyczyły oceny ryzyka niedożywienia (malnutrition risk) wśród osób w warunkach klinicznych. Narzędzia te uwzględniają nie tylko czynniki żywieniowe, ale również antropometryczne i funkcjonalne, które wskazują na ryzyko niedożywienia [60]. Przykładem takich narzędzi są: NRS-2002 (Nutritional Risk Score), MNA (Mini Nutritional Assessment), MNA-SF (Mini Nutritional Assessment – Short Form), MUST (Malnutrition Universal Screening Tool), CNST (Canadian Nutrition Screening Tool), MST (Malnutrition Screening Tool), SNAQ⁶⁵⁺ (The Simplified Nutrition Appetite Questionnaire), NUFFE (The Nutritional Form For the Elderly). Obserwuje się jednak brak spójności wyników tych narzędzi, szczególnie w przypadku przesiewowej diagnostyki niedożywienia osób starszych [61]. Obecnie tego typu narzędzia projektowane są również na potrzeby oceny ryzyka żywieniowego (nutritional risk) różnych grup populacji, w tym osób starszych zamieszkujących społeczność lokalną [60]. Przykładem takiego narzędzia wykorzystywanego na potrzeby oceny ryzyka żywieniowego osób starszych mieszkających w społeczności lokalnej jest kanadyjski kwestionariusz SCREEN (Seniors in the Community: Risk Evaluation for Eating and Nutrition) [55]. O ile przesiewową i kompleksową ocenę stanu odżywienia należy wykonywać w jednostkach instytucjonalnych (szpitale, domy opieki społecznej), szczególnie na potrzeby oceny niedożywienia lub jego ryzyka [30], o tyle w przypadku osób starszych zamieszkujących społeczność lokalną, ocena taka dokonywana jest sporadycznie, jedynie na potrzeby badań naukowych.

Osoby starsze zamieszkujące społeczność lokalną mogą mieć problemy z nabywaniem i konsumpcją żywności i w związku z tym mogą być narażone na zagrożenia żywieniowe [1, 5]. Może to prowadzić do zwiększonego ryzyka żywieniowego, a w konsekwencji pogorszenia stanu zdrowia i wyższej śmiertelności [30, 35, 36]. Według światowych badań z wykorzystaniem kwestionariusza SCREEN II (obecnie SCREEN-14), problem wysokiego ryzyka żywieniowego wśród osób starszych (w wieku 65 lat i więcej) dotyczył 61,5 % do 70,1 % [8]. Niedawne polskie badanie wskazało na występowanie tego ryzyka u 77,5 % badanych osób starszych [22, 23].

Do zwiększonego ryzyka żywieniowego przyczyniają się związane z wiekiem fizjologiczne zmiany, takie jak zmniejszony apetyt i upośledzone zmysły, w szczególności smaku i powonienia, choroby i leki, które zakłócają spożywanie, wchłanianie i metabolizm składników odżywczych, zmniejszona mobilność ograniczająca zakupy spożywcze i przygotowanie posiłków, okoliczności ekonomiczno-społeczne, takie jak ograniczenia finansowe, samotne spożywanie posiłków oraz brak pomocy przy zakupach i przygotowaniu posiłków, czynniki psychologiczne, takie jak depresja, smutek i samotność, aspekty środowiska fizycznego, tj. lokalizacje sklepów spożywczych,

dostępność i przystępność cenowa transportu publicznego oraz izolacja geograficzna [46, 62].

Nie tylko ryzyko żywieniowe, ale również pojedyncze jego czynniki mogą świadczyć o zagrożeniu zdrowia [60]. W oparciu o różne wersje kwestionariusza SCREEN [34, 36, 37, 38] czynniki te można podzielić na:

1. Nieodpowiednie spożywanie pożywienia i warunki, w jakich jest przyjmowane; odnosi się to do spożycia owoców i warzyw, produktów mlecznych, mięsa i jego zamienników, napojów, częstości spożycia, jakości pożywienia oraz możliwości spożywania w towarzystwie innych osób;
2. Ograniczenia związane z trudnościami z żuciem i połykaniem, dietą i środkami finansowymi na zakup pożywienia;
3. Przystosowanie – w odniesieniu do zmiany apetytu, zmiany masy ciała oraz stosowania zamienników posiłków;
4. Funkcjonowanie w środowisku – w odniesieniu do możliwości nabywania żywności i samodzielnego przygotowania posiłków [32, 60].

Badania w zakresie ryzyka żywieniowego osób starszych zamieszkujących społeczność lokalną w Polsce są realizowane. Do tej pory oceniono występowanie ryzyka żywieniowego z uwzględnieniem uwarunkowań demograficznych, społeczno-ekonomicznych oraz związanych ze stylem życia [22, 23]. Nadal brakuje danych na temat identyfikacji czynników ryzyka żywieniowego oraz ich uwarunkowań w populacji osób starszych zamieszkujących społeczność lokalną w Polsce. W tej sytuacji w niniejszym badaniu dokonano oceny występowania czynników ryzyka żywieniowego wraz ze zróżnicowaniem tych czynników ze względu na wybrane uwarunkowania demograficzne i status socjo-ekonomiczny.

Materiał i metody badań

Badanie przeprowadzono w dwóch zróżnicowanych kulturowo i gospodarczo regionach Polski: świętokrzyskim i dolnośląskim. W 2021 r. region świętokrzyski plasował się wśród regionów o najniższym PKB (73,1 % średniego PKB na mieszkańca), podczas gdy region dolnośląski charakteryzował się jednym z najwyższych PKB (110,8 % średniego PKB na mieszkańca) [26]. Badanie zostało przeprowadzone w okresie od maja do lipca 2021 roku w grupie osób w wieku 60 lat i więcej. Próba badań została dobrana arbitralnie poprzez zwrócenie się do wszystkich organizacji senioralnych na terenie województwa świętokrzyskiego i dolnośląskiego z prośbą o zgodę na udział w badaniu. Dodatkowo w celu zróżnicowania próby zastosowano procedurę kuli śnieżnej. Ostatecznie 900 ankiet rozdano w 21 klubach, fundacjach lub innych organizacjach skupiających seniorów. Kryteriami rekrutacji były wiek 60 lat i więcej oraz zamieszkanie w społeczności lokalnej. Osoby, które wyraziły zgodę na udział w badaniu, poproszone zostały o przekazanie kwestionariusza osobom z ich

miejsca zamieszkania, które spełniały kryterium wieku. Ogółem zebrano 466 ankiet, z czego 49 zostało odrzuconych ze względu na brakujące odpowiedzi lub niezrozumienie pytań. Próba badawcza liczyła 417 osób, w tym 230 z województwa świętokrzyskiego oraz 187 z województwa dolnośląskiego. W badaniu wzięło udział 312 kobiet w wieku $60 \div 95$ lat ($70,5 \pm 6,8$ roku) i 105 mężczyzn w wieku od $60 \div 90$ lat ($71,6 \pm 6,3$ lat).

Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską [81]. Od wszystkich uczestników uzyskano świadomą zgodę na udział w badaniu. Ponadto zgodę na udział w badaniu wyraziły osoby zarządzające organizacjami senioralnymi. Badana grupa osób charakteryzowała się niskim prawdopodobieństwem występowania problemów kognitywnych ze względu na wysoką aktywność społeczną. W celu eliminacji czynników zakłócających wiarygodność wyników, ze względu na potencjalne problemy kognitywne respondentów, przeprowadzono dwa działania zapobiegawcze: 1. Sprawdzenie zrozumienia pytań w kwestionariuszu na losowej grupie 20 osób oraz 2. Pytania o wzrost masy ciała i spadek masy ciała w kwestionariuszu SCREEN-14 zostały potraktowane jako pytania kontrolne – sprawdzające funkcje poznawcze. Odpowiedzi wykluczające się w tych pytaniach eliminowały kwestionariusz z dalszych analiz.

Kwestionariusz SCREEN-14 [60], został zastosowany do oceny czynników ryzyka żywieniowego. Kwestionariusz zawiera 14 pytań dotyczących czynników ryzyka żywieniowego: masy ciała, pomijania posiłków, unikania spożycia żywności, apetytu, spożycia warzyw i owoców, spożycia mięsa i jego zamienników, spożycia mleka i produktów mlecznych, spożycia płynów, trudności w połykaniu, trudności w żuciu, stosowania preparatów zastępujących posiłki, spożywania żywności w obecności innych osób, przygotowania posiłków oraz umiejętności robienia zakupów spożywczych. Pytanie dotyczące masy ciała składało się z 5 pytań szczegółowych, tj. pytania o: przyrost masy ciała, utratę masy ciała, obserwacji zmiany masy ciała w okresie ostatnich 6 miesięcy oraz postrzegania własnej masy ciała w aspekcie jej przyrostu i utraty. W efekcie w analizie statystycznej uwzględniono 19 czynników ryzyka żywieniowego. Zgodnie z procedurą oceny ryzyka żywieniowego [60], w poszczególnych pytaniach każdej odpowiedzi można było przypisać od 0 do 4 punktów. Wynik ≤ 2 punktów informuje o występowaniu ryzyka żywieniowego ze względu na czynnik uwzględniony w pytaniu. Maksymalna liczba punktów dla kwestionariusza SCREEN-14 wynosiła 64. Na podstawie punktu odcięcia (50 pkt.) wyodrębniono dwa poziomy nasilenia ryzyka żywieniowego: niskie ryzyko żywieniowe (50 i więcej punktów) oraz wysokie ryzyko żywieniowe (poniżej 50 punktów).

W celu charakterystyki demograficznej grupy badanej zastosowano pytania dotyczące płci, wieku, regionu zamieszkania, miejsc zamieszkania oraz struktury gospodarstwa domowego.

Do oceny statusu socjoekonomicznego (SES) zastosowano następujące pytania i indeksy punktowe:

1. Samoocena sytuacji materialnej – zastosowano dwa pytania: *Jak Pan(i) ocenia swoją sytuację materialną?*, z następującymi odpowiedziami: poniżej przeciętnej (1 pkt.), przeciętna (2 pkt.), powyżej przeciętnej (3 pkt.) oraz *Jak Pan(i) ocenia sytuację finansową swojej rodziny?*, z następującymi odpowiedziami: nie wystarcza mi nawet na podstawowe potrzeby (1 pkt.), muszę na co dzień bardzo oszczędnie gospodarować (2 pkt.), wystarcza mi na co dzień, ale muszę oszczędzać na poważniejsze zakupy (3 pkt.), wystarcza mi na wiele bez specjalnego oszczędzania (4 pkt.), mogę pozwolić sobie na pewien luksus (5 pkt.).
2. Wykształcenie – pytanie *Jakie jest Pana(i) wykształcenie?*, z następującymi odpowiedziami: podstawowe (1 pkt.), zasadnicze zawodowe (2 pkt.), średnie (3 pkt.), wyższe (4 pkt.).
3. Aktywność społeczna – pytanie *Czy bierze Pan(i) aktywny udział w różnego rodzaju spotkaniach społeczno-kulturowych np. w klubach, kołach, stowarzyszeniach, fundacjach, festynach i innych organizacjach dla seniorów?*, z następującymi odpowiedziami: nie (1 pkt.), tak, ale rzadko (2 pkt.), tak, czasami (3 pkt.), tak, często (4 pkt.).
4. Relacje rodzinne – pytanie: *Jak ocenia Pan(i) swoje relacje z najbliższą rodziną?*, z następującymi odpowiedziami: źle (1 pkt.), przeciętnie (2 pkt.), dobrze (3 pkt.), bardzo dobrze (4 pkt.).

Status socjoekonomiczny (SES) osób starszych obliczono, stosując procedurę według wcześniej opracowanego indeksu SES [16, 78]. Indeks SES obliczono dla każdego uczestnika poprzez zsumowanie punktów dla każdej zmiennej, tj. własnej sytuacji materialnej, wykształcenia, aktywności społecznej oraz relacji rodzinnych wchodzących w skład takiego indeksu. Maksymalnie można było uzyskać 18 pkt. Do oceny rzetelności danych wejściowych do indeksu SES wykorzystano wskaźnik alfa Cronbacha [69]. Dla zmiennych wchodzących w skład indeksu SES wyniósł on 0,703. Na podstawie rozkładu tercjalnego indeksu SES wyodrębniono grupy uczestników o niskim (< 12 pkt.), średnim (12 ÷ 13 pkt.) i wysokim (> 13 pkt.) nasileniem indeksu SES.

Analiza statystyczna

Zmienne jakościowe przedstawiono w wartościach liczbowych i procentowych (%). Do weryfikacji różnic między tymi zmiennymi wykorzystano test chi-kwadrat.

W celu interpretacji uzyskanych wyników zastosowano analizę skupień dokonując hierarchicznej klasyfikacji zmiennych z wykorzystaniem metody Warda. Analiza ta szacuje odległość pomiędzy zbiorami (skupieniami) zmiennych z wykorzystaniem analizy wariancji. Do analizy wprowadzono zmienne opisujące 19 czynników ryzyka

żywieniowego (zmienna dychotomiczna: 1/ brak ryzyka żywieniowego, 2 – ryzyko żywieniowe).

Do oceny zależności pomiędzy zidentyfikowanymi skupieniami przedstawiającymi czynniki ryzyka żywieniowego (przynależność do skupienia/brak przynależności), nasileniem ryzyka żywieniowego, cechami demograficznymi oraz indeksem SES wykorzystano analizę regresji logistycznej. Wartości ilorazu szans (OR) obliczono na 95% poziomie ufności. Grupy odniesienia (OR = 1,00) stanowiły: brak przynależności czynników ryzyka żywieniowego do danego skupienia oraz wybrane kategorie odpowiedzi dotyczące cech demograficznych i indeksu SES. Wartość $p < 0,05$ uznawano za istotną dla wszystkich testów.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania statystycznego STATISTICA (wersja 13,3 PL; StatSoft Inc., Tulsa, USA; StatSoft, Kraków, Polska) [70].

Wyniki

Charakterystyka grupy badanej

Tabela 1 przedstawia charakterystykę badanej grupy populacyjnej. Wysokie nasilenie ryzyka żywieniowego dotyczyło prawie 4/5 uczestników badania. Prawie 3/4 tej grupy stanowiły kobiety oraz osoby w wieku 60 ÷ 74 lata, ponad połowa zamieszkiwała województwo świętokrzyskie, ponad 3/5 mieszkało w dużym mieście, a prawie 1/3 – w środowisku wiejskim. Ponad 2/5 respondentów mieszkało z partnerem, ponad 1/3 mieszkało samotnie a pozostali – z rodziną (z partnerem lub bez). Najwięcej, bo ponad 2/5 respondentów charakteryzowało się średnim, około 1/3 – niskim, a 1/4 – wysokim poziomem indeksu SES.

Czynniki ryzyka żywieniowego

Wykorzystując hierarchiczną klasyfikację zmiennych metodą Warda wyłoniono dwa skupienia czynników ryzyka żywieniowego (Rysunek 1). Pierwsze skupienie opisane jako „Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe” dotyczyło czynników związanych z przyrostem masy ciała (*zwiększona masa ciała, negatywne postrzeganie zwiększonej masy ciała*), spadkiem apetytu oraz negatywnymi przekonaniem i zachowaniami żywieniowymi (*niechęć do przygotowania posiłków, problemy z zakupem żywności, pomijanie posiłków, unikanie żywności, ograniczone spożycie posiłków w towarzystwie innych osób oraz ograniczenia związane ze spożyciem płynów, produktów mlecznych, mięsnych i ich zamienników oraz warzyw i owoców*). Drugie skupienie opisane jako „Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne” dotyczyło czynników związanych z utratą masy ciała (*zmniejszona masa ciała, negatywne postrzeganie zmniejszonej masy*

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej

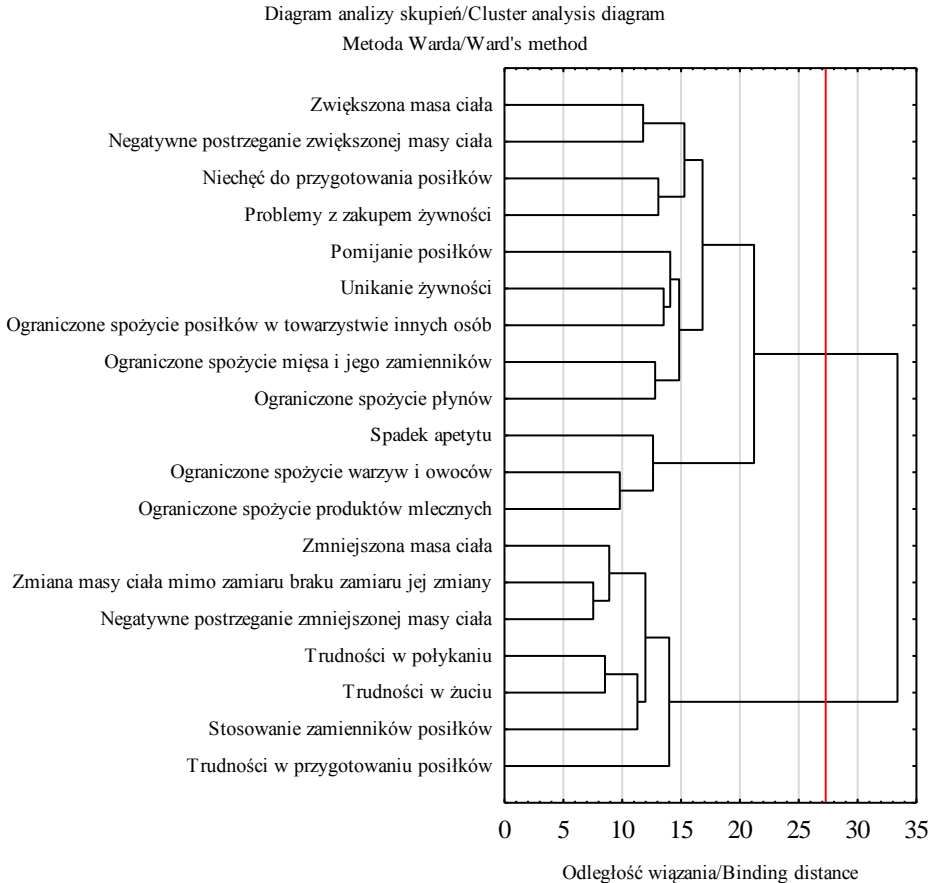
Table 1. Study sample characteristics

Zmienne / Variables	N=417	[%]
Nasilenie ryzyka żywieniowego / Intensity of nutritional risk		
niskie / low	94	22.5
wysokie / high	323	77.5
Płeć / Gender		
kobiety / women	312	74.8
mężczyźni / men	105	25.2
Wiek / Age		
60 ÷ 74 lata / years	314	75.3
75 lat i powyżej / years and older	103	24.7
Region zamieszkania / Region of residence		
świętokrzyski	230	55.2
dolnośląski	187	44.8
Miejsce zamieszkania / Place of residence wieś/village	122	29.3
miasto < 100,000 mieszkańców / city < 100,000 inhabitants	35	8.4
miasto > 100,000 mieszkańców / city > 100,000 inhabitants	260	62.3
Struktura gospodarstwa domowego / Household structure		
zamieszkanie samotnie / living alone	154	36.9
zamieszkanie z partnerem / living with a partner	168	40.3
zamieszkanie z rodziną, ale bez partnera / living with family without a partner	53	12.7
zamieszkanie z rodziną i z partnerem / living with family and partner	42	10.1
Nasilenie indeksu SES / Intensity of SES index		
niskie / low	133	31.9
umiarkowane / medium	181	43.4
wysokie / high	103	24.2

ciała, zmiana masy ciała mimo braku zamiaru jej zmiany oraz utratą cech funkcjonalnych organizmu związanych z przygotowaniem i spożywaniem żywności (trudności w przygotowaniu posiłków, stosowanie zamienników posiłków, trudności w żuciu i polykaniu).

Związek czynników ryzyka żywieniowego z poziomem ryzyka żywieniowego oraz cechami demograficznymi i statusem socjo-ekonomicznym

W pierwszym skupieniu opisanym jako „Przyrost masy ciała oraz negatywne przekonania i zachowania żywieniowe” było istotnie więcej osób mieszkających w miastach poniżej 100 tys. mieszkańców oraz osób mieszkających z partnerem (bez rodziny) lub samotnie. To skupienie było charakterystyczne dla ponad 4/5 badanych. W skupieniu drugim opisanym jako „Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne”, było więcej osób charakteryzujących się wysokim ryzykiem



Rys. 1. Hierarchiczna klasyfikacja zmiennych opisująca czynniki ryzyka żywieniowego

Fig. 1. Hierarchical classification of variables describing nutritional risk factors

żywieniowym, w wieku 75 lat i więcej, mieszkających z rodziną (z partnerem lub bez), ale też z niskim statusem socjoekonomicznym. To skupienie było charakterystyczne dla mniej niż 1/5 badanych – tabela 2.

Wyniki regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 3. Wykazały one, że osoby przynależne do skupienia pierwszego opisanego jako „Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe” częściej zamieszkiwały małe niż duże miasta, częściej zamieszkiwały samotnie niż z rodziną i partnerem lub częściej zamieszkiwały z partnerem niż z rodziną (niezależnie od tego czy z partnerem czy bez partnera). Z kolei osoby przynależne do skupienia drugiego o nazwie „Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne” częściej charakteryzowały się wysokim niż niskim ryzykiem żywieniowym, częściej były w wieku 75 lat i więcej niż

Tabela 2. Charakterystyka wyodrębnionych skupień z uwzględnieniem ryzyka żywieniowego, cech demograficznych oraz statusu socjo-ekonomicznego

Table 2. Characteristics of the identified clusters by nutritional risk, demographic characteristics and socio-economic status

	Skupienia/Clusters			
	„Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe”/ “Weight gain and unfavorable beliefs and eating behaviors” SKUPIENIE 1/ CLUSTER 1 ^a		„Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne”/ “Weight loss and its perception and functional limitations” SKUPIENIE 2/ CLUSTER 2 ^b	
	N*	%	N	%
Ogółem/Total	345	82.7	72	17.3
Nasilenie ryzyka żywieniowego/Intensity of nutritional risk ($p < 0.05$) ^b				
niskie / low	90	95.7	4	4.3
wysokie / high	255	78.9	68	21.1
Płeć/Gender ($p \geq 0.05$)				
kobiety / women	258	82.7	54	17.3
mężczyźni / men	87	82.8	18	17.1
Wiek/Age ($p < 0.05$) ^b				
60-74 lata / years	263	83.8	51	16.2
75 lat i powyżej / years and older	82	79.6	21	20.4
Region zamieszkania/Region of residence ($p \geq 0.05$)				
świętokrzyski	197	85.6	33	14.3
dolnośląski	148	79.1	39	20.9
Miejsce zamieszkania/Place of residence ($p < 0.05$) ^a				
wieś / village	102	83.6	20	16.4
miasto <100 000 mieszkańców / city < 100,000 inhabitants	31	88.6	4	11.4
miasto >100 000 mieszkańców / city > 100,000 inhabitants	212	81.5	48	18.5
Struktura gospodarstwa domowego / Household structure ($p < 0.05$) ^{a,b}				
zamieszkanie samotnie / living alone	127	82.5	27	17.5

zamieszkanie z partnerem / living with a partner	150	89.3	18	10.7
zamieszkanie z rodziną, ale bez partnera / living with family without a partner	41	77.4	12	22.6
zamieszkanie z rodziną i z partnerem / living with family and partner	27	64.3	15	35.7
Nasilenie indeksu SES / Intensity of SES index ($p < 0.05$) ^b				
niskie / low	105	78.9	28	21.1
umiarkowane / medium	157	86.7	24	13.3
wysokie / high	83	80.6	20	19.4

*N – liczba przypadków/number of cases; ^{a,b}różnice istotne statystycznie ze względu na kategorie nasilenia ryzyka żywieniowego, cech demograficznych oraz statusu socjo-ekonomicznych – test chi-kwadrat, $p < 0.05$ / statistically significant differences by categories of intensity of nutritional risk, demographic characteristics and socio-economic status - chi-square test, $p < 0.05$

Tabela 3. Iloraz szans dla wyodrębnionych skupień z uwzględnieniem ryzyka żywieniowego oraz cech demograficznych i socjo-ekonomicznych
 Table 3. Odds ratio for the extracted clusters with nutritional risk and demographic and socio-economic characteristics

	Skupienia / Clusters			
	Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe / “Weight gain and unfavorable beliefs and eating behaviors” SKUPIENIE 1 / CLUSTER 1 (<i>Ref.</i> ^a Brak przynależności czynników do skupienia 1 / Lack of affiliation of factors to cluster 1)		Utrata masy ciała i jej postrzeganie oraz ograniczenia funkcjonalne / “Weight loss and its perception and functional limitations” SKUPIENIE 2 / CLUSTER 2 (<i>Ref.</i> Brak przynależności czynników do skupienia 2 / Lack of affiliation of factors to cluster 2)	
	OR ^b	<i>p</i>	OR	<i>P</i>
Nasilenie ryzyka żywieniowego / Intensity of nutritional risk niskie / low (<i>Ref.</i> ^a) wysokie / high	1.00 0.80 (0.50÷1.28)	- 0.332	1.00 2.94 (1.61÷4.55)	- < 0.001
Płeć / Gender kobiety /women (<i>Ref.</i>) mężczyźni / men	1.00 1.02 (0.61÷1.72)	- 0.955	1.00 0.96 (0.61÷1.54)	- 0.868
Wiek / Age 60-74 lata / years (<i>Ref.</i>) 75 lat i powyżej / years and older	1.00 0.94 (0.58÷1.48)	- 0.702	1.00 1.64 (1.01÷2.64)	- 0.044
Region zamieszkania / Region of residence świętokrzyski (<i>Ref.</i>) dolnośląski	1.00 0.91 (0.57÷1.46)	- 0.698	1.00 1.44 (0.83÷2.48)	- 0.213
Miejsce zamieszkania / Place of residence wieś/village (<i>Ref.</i>) miasto < 100 000 mieszkańców/city < 100,000 inhabitants miasto > 100 000 mieszkańców/city > 100,000 inhabitants miasto <100 000 mieszkańców/city <100,000 inhabitants (<i>Ref.</i>) miasto > 100 000 mieszkańców/city > 100,000 inhabitants	1.00 1.36 (0.85÷2.19) 0.86 (0.54÷1.37) 1.00 0.60 (0.36÷0.99)	- 0.196 0.523 - 0.044	1.00 0.66 (0.38÷1.14) 1.15 (0.73÷1.81) 1.00 1.48 (0.86÷2.55)	- 0.145 0.577 - 0.154

Struktura gospodarstwa domowego / Household structure				
zamieszkanie samotnie / living alone (<i>Ref.</i>)	1.00	-	1.00	-
zamieszkanie z partnerem / living with a partner	1.16 (0.73÷1.85)	0.534	0.36 (0.20÷0.58)	< 0.001
zamieszkanie z rodziną, ale bez partnera / living with family without a partner	0.87 (0.55÷1.38)	0.523	1.60 (1.01÷2.56)	0.040
zamieszkanie z rodziną i z partnerem / living with family and partner	0.61 (0.38÷0.99)	0.045	2.10 (1.30÷3.40)	0.002
zamieszkanie z partnerem / living with a partner (<i>Ref.</i>)	1.00	-	1.00	-
zamieszkanie z rodziną, ale bez partnera / living with family without a partner	0.74 (0.57÷0.97)	< 0.001	1.94 (1.20÷3.15)	0.007
zamieszkanie z rodziną i z partnerem / living with family and partner	0.46 (0.29÷0.80)	< 0.001	2.62 (1.49÷4.00)	< 0.001
zamieszkanie z rodziną, ale bez partnera / living with family without a partner (<i>Ref.</i>)	1.00	-	1.00	-
zamieszkanie z rodziną i z partnerem / living with family and partner	0.69 (0.44÷1.09)	0.212	2.15 (1.25÷3.41)	0.001
Nasilenie indeksu SES / Intensity of SES index				
niskie / low (<i>Ref.</i>)	1.00	-	1.00	-
umiarkowane / medium	1.24 (0.72÷2.16)	0.220	0.34 (0.21÷0.56)	< 0.001
wysokie / high	1.04 (0.65÷1.61)	0.718	0.87 (0.52÷1.52)	0.388
umiarkowane / medium (<i>Ref.</i>)	1.00	-	1.00	-
wysokie / high	0.86 (0.55÷1.34)	0.484	1.46 (0.86÷2.53)	0.152

^agrupa referencyjna/reference group; ^biloraz szans oszacowany metodą Walda przy 95% poziomie ufności / point estimate at 95% Wald confidence; *p* – poziom istotności testu Walda / significance level of the Wald's test.

w wieku 60 ÷ 74 lata, częściej zamieszkiwały samotnie niż z partnerem, ale też częściej zamieszkiwały z rodziną (z partnerem lub bez) niż samotnie lub z partnerem. Również częstsze zamieszkiwanie z rodziną i z partnerem niż bez partnera było powodem przynależności do skupienia 2. Do tego skupienia należeli także badani z niższym SES niż umiarkowanym.

Dyskusja

W badaniu zajęto się czynnikami ryzyka żywieniowego, które zostały uwzględnione w kwestionariuszu SCREEN-14. Występowanie tych czynników zbadano wśród starszych osób w wieku 60 lat i więcej w dwóch regionach Polski. Stosując hierarchiczną klasyfikację zmiennych metodą Warda wyłoniono dwa skupienia tych czynników. Pierwsze skupienie zostało opisane jako: „Przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe”. Drugie skupienie zostało opisane jako: „Utrata masy ciała oraz ograniczenia funkcjonalne”. Wyniki badania wskazują, że zachodzi różnorodna i wzajemnie się wykluczająca zależność między wyłoniłymi skupieniami czynników ryzyka żywieniowego, nasileniem ryzyka żywieniowego (niskie, umiarkowane, wysokie), uwarunkowaniami demograficznymi (płeć, wiek, region zamieszkania, miejsce zamieszkania oraz struktura gospodarstwa domowego) i statusem socjoekonomicznym (niskim, umiarkowanym, wysokim).

Światowe badania kohortowe prowadzone w różnych grupach etnicznych jednoznacznie wskazują na występowanie odwrotnej zależności między BMI a jakością diety, tj. wysoka jakość diety związana jest z niższym wskaźnikiem BMI [76]. Potwierdzają to badania z wykorzystaniem różnych wskaźników jakości diety (Healthy Eating Index - HEI-2015, Alternative Healthy Eating Index - AHEI-2010, alternate Mediterranean Diet - aMED and Dietary Approaches to Stop Hypertension - DASH) w 10-letnich badaniach prospektywnych [29]. Podobne obserwacje odnotowuje się w przypadku oceny związku między wzrostem BMI i niekorzystnymi zachowaniami żywieniowymi [4]. Co istotne, obserwuje się silny związek takich zależności wśród osób starszych [76]. Podobnie w niniejszym badaniu wykazano, że przyrost masy ciała wśród osób starszych miał związek z niekorzystnymi przekonaniami i zachowaniami żywieniowymi, tj. unikaniem żywności, pomijaniem posiłków, w tym ograniczonym spożyciem płynów, produktów mlecznych, mięsa i jego zamienników, warzyw i owoców, a także ograniczeniami w zakresie spożycia posiłków w towarzystwie innych osób, zakupu żywności oraz niekorzystnej opinii o przygotowaniu posiłków (skupienie 1).

Dotychczasowe badania określające związek między wskaźnikiem masy ciała (BMI) i jakością diety [29, 76] mogą wskazywać na występowanie zależności między przyrostem masy ciała oraz nieprzestrzeganiem wzorów żywieniowych (elementy

składowe wskaźników jakości diety), tj. spożyciem różnorodnych warzyw, owoców, produktów zbożowych pełnoziarnistych, beztłuszczowych lub niskotłuszczowych produktów mlecznych, owoców morza, chudego mięsa i drobiu, jaj, fasoli, grochu, orzechów, nasion, umiarkowanym spożyciem nasyconych kwasów tłuszczowych, izomerów trans kwasów tłuszczowych, cukrów dodanych i sodu [12, 20, 21, 47, 77]. W naszym badaniu wykazano, że przyrost masy ciała miał związek z ograniczonym spożyciem warzyw, owoców, mleka i produktów mlecznych, mięsa i jego zamienników oraz płynów.

W innych badaniach wśród osób starszych wskazano na związek spadku apetytu i związanego z tym ograniczonego spożycia żywności ze spadkiem masy ciała [39, 68]. Niniejsze badanie wskazuje na odwrotną zależność. Wykazano, że wzrost masy ciała wiązał się ze spadkiem apetytu, unikaniem żywności, pomijaniem posiłków, trudnościami z nabywaniem żywności oraz z niechęcią do przygotowania posiłków d. Tego typu zjawisko może wynikać z trzech powodów. Po pierwsze spadek apetytu może wiązać się z unikaniem żywności korzystnej żywieniowo (o niskiej gęstości energetycznej i wysokiej gęstości odżywczej). Po drugie, podwyższone BMI może wiązać się z niższym statusem społeczno-ekonomicznym [13, 26], na który składać się mogą: niski dochód lub zasoby finansowe, niskie wykształcenie oraz brak wsparcia społecznego, które utrudniają nabywanie i spożywanie żywności prozdrowotnej. Po trzecie, problemy z zakupem żywności i niechęć do przygotowania posiłków mogą być spowodowane utratą mobilności i dużą odległością sklepów od miejsca zamieszkania, które z kolei prowadzą do utraty bezpieczeństwa żywnościowego [24]. Brak bezpieczeństwa żywnościowego w wieku starszym wpływa na ryzyko chorób metabolicznych, w tym otyłości [18, 19]. Konsekwencją braku bezpieczeństwa żywnościowego jest spożywanie żywności o wysokiej gęstości energetycznej i niskiej gęstości odżywczej (tańszej), w tym o niskiej zawartości błonnika pokarmowego oraz przyrost masy ciała, rozwój nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 i innych chorób przewlekłych [5, 50]. Ponadto wyniki wielu badań wskazują, że regularne spożywanie przez osoby starsze posiłków, zwłaszcza przygotowanych w domu, wiąże się z większym prawdopodobieństwem zachowania prawidłowej masy ciała [52, 74]. Z kolei ograniczanie posiłków może nie tylko być przyczyną, ale również skutkiem nadmiernej masy ciała, co można tłumaczyć większą objętością posiłków przy mniejszej ich ilości. Dla przykładu, mężczyźni gospodarujący samotnie lub których partnerki nie są w stanie wykonywać czynności kulinarnych, są bardziej narażeni na problemy żywieniowe i związane z tym problemy z utrzymaniem prawidłowej masy ciała [74].

W badaniu własnym wykazano, że przyrost masy ciała oraz niekorzystne przekonania i zachowania żywieniowe częściej dotyczył mieszkańców małych miast i wsi. Podobne wyniki zaobserwowano w badaniu PolSenior2 [10], oraz w międzynarodowym badaniu NCD-RisC (NCD Risk Factor Collaboration), [57]. Może to wynikać

z tego, że osoby starsze zamieszkujące obszary wiejskie czy małe miasta, ze względu na ograniczoną dostępność usług oraz ograniczenia funkcjonalne, wykazują się gorszym przestrzeganiem zaleceń żywieniowych [2, 83]. Niekorzystne zachowania żywieniowe i w związku z tym przyrost masy ciała to również domena osób starszych mieszkających w pojedynkę [41, 42, 43].

W tym badaniu wykazano, że utrata masy ciała miała związek z ograniczeniami funkcjonalnymi, takimi jak: trudności w żuciu i połykaniu, trudności w przygotowaniu posiłków oraz stosowanie zamienników posiłków (skupienie 2). Podobnie badania światowe wskazują, że utrata masy ciała lub niedożywienie wśród osób starszych zamieszkujących w społeczności miały związek z trudnościami związanymi z przygotowaniem posiłków oraz ich spożyciem [39]. Być może dlatego w tym badaniu zaobserwowano związek utraty masy ciała ze stosowaniem zamienników posiłków. Inne badania informowały, że zastosowanie takich zamienników w celach terapeutycznych w przypadku występowania niedożywienia wśród osób starszych dawało pozytywne korzyści. Nie odnotowano natomiast pozytywnej roli zamienników posiłków jako metody poprawy cech funkcjonalnych organizmu w starszym wieku [53].

Utrata masy ciała i ograniczenia funkcjonalne mogą być konsekwencją niedoborów żywieniowych [48, 62], gdyż stan odżywienia to kluczowy modyfikowalny element tych zaburzeń [3]. Z drugiej strony ograniczenia funkcjonalne np. problemy z żuciem lub połykaniem oraz trudności związane z przygotowaniem posiłków np. z powodu utraty mobilności mogą prowadzić do niedoborów żywieniowych, co w efekcie prowadzi do tzw. błędnego koła [62]. Takie zależności wykazano również w badaniu własnym. Niedobory ilościowe i jakościowe w diecie osób starszych mogą prowadzić do problemów zdrowotnych, w tym do utraty masy ciała lub niedożywienia, których częstość rośnie z wiekiem [64]. Ponadto sam wiek jest znaczącym czynnikiem ryzyka utraty masy ciała, niedożywienia oraz ograniczeń funkcjonalnych [14, 59, 41]. Niektóre badania sugerują, że osoby w wieku 80 lat lub starsze są narażone na zwiększone ryzyko żywieniowe i redystrybucję tkanki tłuszczowej [65], co może wpływać na pogorszenie stanu funkcjonalnego i ryzyko zgonu [14]. W badaniu własnym wiek powyżej 75 lat był istotnie związany z utratą masy ciała i ograniczeniami związanymi z żuciem, połykaniem i przygotowywaniem posiłków. Problemy z żuciem w późnym wieku mogą wynikać z utraty zębów i stosowania protez zębowych. Niższą wartość odżywczości diety odnotowuje się u osób starszych, które utraciły zęby [71]. Oprócz utraty zębów zmniejszone wydzielanie śliny, choroby przyzębia oraz próchnica zębów mogą ograniczać wybór żywności oraz spożywanie składników odżywczych [25]. Z kolei kaszel, krztuszenie się lub ból przy połykaniu tylko czasami są identyfikowane jako czynniki ryzyka żywieniowego [62]. Taka sytuacja może prowadzić do konieczności stosowania żywności specjalnego medycznego przeznaczenia, co dodatkowo uzasadnia wyniki badania własnego.

Wysokie ryzyko żywieniowe prowadzące do konsekwencji zdrowotnych wynika z problemów żywieniowych osób starszych. Do tych problemów zaliczamy przede wszystkim: nieregularne spożycie posiłków, spożycie mniejszej liczby posiłków niż zalecane, pomijanie ciepłych posiłków, rzadkie spożywanie warzyw i owoców, a także płynów oraz nadmierne spożycie produktów z mąki rafinowanej, czerwonego mięsa, wędlin, masła, słodczy i potraw smażonych [40, 79]. Taka struktura spożycia prowadzi do konsekwencji żywieniowych, czyli nieodpowiedniego spożycia tłuszczu ogółem i kwasów tłuszczowych nasyconych, cukru, soli, błonnika pokarmowego oraz kluczowych mikro- i makroelementów oraz witamin, w tym: witaminy D, B2, B12 i kwasu foliowego [31]. Z kolei te konsekwencje żywieniowe wiążą się bądź to z rozwojem chorób metabolicznych, bądź to z niedożywieniem. W literaturze odnotowuje się związek wysokiego ryzyka żywieniowego z utratą masy ciała [46, 62], co zostało potwierdzone również w wynikach badania własnego.

W niniejszym badaniu wykazano, że osoby zamieszkujące samotnie lub z rodziną (z partnerem lub bez) częściej niż osoby zamieszkujące jedynie z partnerem mają skłonność do utraty masy ciała oraz występowania ograniczeń funkcjonalnych. Ludzie, którzy żyją samotnie, są bardziej narażeni na ryzyko żywieniowe [62]. Życie w pojedynkę może sygnalizować izolację społeczną, która powiązana jest z niekorzystnym sposobem żywienia [48]. Ludziom, którzy są odizolowani, może brakować wsparcia społecznego, w tym pomocy w sprawach praktycznych, takich jak gotowanie, transport na zakupy czy relacji towarzyskich zachęcających do jedzenia [62]. Literatura wskazuje, że jedzenie w samotności może prowadzić do problemów zdrowotnych u osób starszych, szczególnie u tych osób starszych, którzy mieszkają z innymi, ale jedzą samotnie [75]. Okazuje się, że spożycie składników odżywczych u osób starszych żyjących z osobami innymi niż współmałżonek było niższe niż w przypadku życia w pojedynkę [17]. Dzieje się tak częściowo z powodu coraz bardziej zauważalnych ograniczeń opiekuńczych, ekonomicznych i społecznych tradycyjnej funkcji rodziny [7]. Ponadto, przy braku opieki, ograniczenia funkcjonalne (np. trudności z żuciem i połykaniem) oraz ograniczenia adaptacyjne (np. trudności w samodzielnym przygotowaniu posiłków) pogłębiają problem związany ze spożyciem żywności. Niskie spożycie żywności i niepoprawnie zbilansowana dieta prowadzą do niedostatecznej wartości energetycznej diety, składników odżywczych i utraty masy ciała, powodując różne problemy zdrowotne, w tym rosnące ryzyko zespołu słabości oraz wyższe ryzyko śmiertelności [75]. Należy zaznaczyć, że utrata masy ciała z powodu jedzenia w samotności może być warunkowana długością czasu trwania takiej sytuacji. W badaniu Kubo i innych [44] dotyczącym zmiany masy ciała w przeciągu siedmiomiesięcznego jedzenia w samotności nie wykazano utraty masy ciała. Jednak w innym badaniu wykazano, że 5,8 % samotnych osób starszych zamieszkujących w społeczności utraciło ponad 10 % masy ciała w przeciągu 3 lat [45].

Osoby charakteryzujące się niskim statusem społeczno-ekonomicznym obciążone są czynnikami ryzyka związanymi ze stylem życia, w tym czynnikami związanymi z niższym spożyciem produktów korzystnych żywieniowo [58]. W badaniu własnym niski status społeczno-ekonomiczny był związany z utratą masą ciała oraz ograniczeniami funkcjonalnymi. Lepsza sytuacja społeczno-ekonomiczna wpływała na większe spożycie warzyw, owoców, produktów mlecznych, zbożowych, ryb oraz soków owocowych i warzywnych [58, 79]. Wykształcenie i dochody to podstawowe wyznaczniki statusu społeczno-ekonomicznego [62]. Z wyższego poziomu wykształcenia mogą wynikać bardziej pozytywne zachowania zdrowotne, większe poczucie kontroli nad wyborami żywieniowymi oraz bardziej świadome wybory żywieniowe, ale również większe zasoby finansowe [48]. Seniorzy o niższych dochodach mogą ograniczać potrzeby, w tym ilość i jakość spożywanej żywności [11, 56].

Czynniki limitujące

Zwiększająca się populacja osób starszych i rosnąca zachorowalność są obecnie podstawowymi kwestiami zdrowia publicznego. Problem badawczy podjęty w tym badaniu pomaga zrozumieć wzajemne powiązania między czynnikami ryzyka żywieniowego, cechami demograficznymi i statusem socjo-ekonomicznym osób starszych, dzięki czemu uzyskane wyniki mogą być pomocne w opracowywaniu interwencji mających na celu poprawę jakości życia tej grupy. W przeciwieństwie do jakości diety, stanu odżywienia, częstości występowania niedożywienia i chorób metabolicznych, żywieniowe czynniki ryzyka jako złożony konstrukt nie były dotychczas badane, co można uznać za mocną stronę badania. Ponadto uczestnicy badania reprezentują zjawisko "age in place", tzn. są osobami, które nie korzystają na stałe z opieki instytucjonalnej. Rozpoznanie tego zjawiska jest ważne z wielu powodów, w tym warunków życia, oczekiwań, ale także kosztów organizacji opieki instytucjonalnej, aby następnie móc przewidywać zmiany, a przede wszystkim przeciwdziałać niekorzystnym zmianom w jakości życia osób starszych pozostających we własnym środowisku zamieszkania.

Niemniej jednak badanie ma pewne ograniczenia. Po pierwsze, badanie poprzeczne nie pozwala na ocenę związku przyczynowo-skutkowego między badanymi zjawiskami. Takie badania nie rejestrują również zmian w czasie, które obecnie są dynamiczne (ze względu na recesję, inflację, pandemię Covid-19, konflikty zbrojne w Europie) i mają istotny wpływ na poziom bezpieczeństwa żywnościowego a zatem również na poziom ryzyka żywieniowego, zwłaszcza wśród wrażliwej społecznie subpopulacji osób starszych. Po drugie, ze względu na brak reprezentatywności grupy badanej (tylko dwa województwa, osoby reprezentujące kluby seniora), wyników badania nie można odnieść do całej populacji starszych mieszkańców Polski. Poza odmiennym kontekstem kulturowym i ekonomicznym poszczególnych regionów Polski, ograniczeniami próby badawczej są także różnice w statusie ekonomicznym, psycho-

społecznym i zdrowotnym osób starszych aktywnych społecznie (beneficjentów klubów seniora) w porównaniu z seniorami wycofanymi społecznie i niepełnosprawnymi, żyjącymi w różnych społecznościach lokalnych. Ponadto w badanej grupie występowała nadreprezentacja kobiet (74,2 %) w stosunku do polskiej populacji osób starszych (58,1 %) [72], co może wynikać z ich większej aktywności społecznej. Arbitralny dobór grupy badanej i wynikające z niego odchylenia od charakterystyki ogólnej populacji osób starszych mogą zatem ograniczać możliwość odtworzenia wyników w grupie reprezentatywnej, tj. wyłonionej rekomendowaną metodą ogólnopolskiej próby.

Wnioski

Na poziomie populacji osób starszych badania przesiewowe ryzyka żywieniowego pomagają zidentyfikować wrażliwe subpopulacje oraz modyfikowalne czynniki ryzyka. Tego typu badania mogą być źródłem danych dla polityki zdrowia publicznego i programów wsparcia społecznego [33]. Ponadto identyfikacja czynników ryzyka żywieniowego i ich uwarunkowania pozwalają ocenić przyczyny występowania ryzyka żywieniowego. Wyniki badania potwierdziły związek między skupieniami czynników ryzyka żywieniowego, nasileniem ryzyka żywieniowego, cechami demograficznymi i statusem socjoekonomicznym osób starszych.

Wykazano, że:

1. Czynniki związane z przyrostem masy ciała miał związek z wieloma innymi czynnikami ryzyka żywieniowego o charakterze behawioralnym (unikanie żywności, pomijanie posiłków, ograniczenie spożycia warzyw, owoców, mleka i jego produktów, mięsa i jego zamienników oraz płynów), również o charakterze adaptacyjnym (spadek apetytu, problemy z zakupem żywności) oraz o charakterze negatywnych przekonań żywieniowych związanych z przygotowaniem posiłków. Skupienie tego typu czynników było bardziej charakterystyczne dla osób zamieszkujących samotnie lub z partnerem, ale bez rodziny i dla osób zamieszkujących małe miasta.
2. Czynniki związane z ubytkiem masy ciała i jego negatywnym postrzeganiem częściej korespondował z czynnikami o charakterze ograniczeń funkcjonalnych (trudności z żuciem i połykaniem, trudności związane z przygotowaniem posiłków oraz stosowanie zamienników posiłków). Tym razem tego typu czynniki ryzyka miały związek z wysokim nasileniem ryzyka żywieniowego, wiekiem > 75 lat, zamieszkaniem z rodziną lub samotnie, ale też z niskim statusem społeczno-ekonomicznym.

Uzyskane wyniki, które nie zawsze są spójne z wynikami wcześniejszych badań, mogą potwierdzać dużą dynamikę zmian w środowisku życia osób starszych. Wskazuje to na potrzebę prowadzenia systematycznych badań nad żywieniowymi czynnikami

ryzyka i jego determinantami w grupie osób starszych w celu zdiagnozowania uwarunkowań ich sytuacji żywieniowej.

Uzyskane wyniki mogą znaleźć zastosowanie w planowaniu polityki społecznej oraz polityki zdrowotnej wobec osób starszych. Decydenci w planowaniu polityki zdrowia publicznego powinni uwzględniać dane i wskaźniki dotyczące ryzyka żywieniowego i jego uwarunkowań, aby zwiększyć skuteczność działań mających na celu ograniczenie negatywnych zmian w zdrowiu i jakości życia osób starszych. Ponadto wyniki badania mogą być wykorzystane w pracach nad projektowaniem modeli koncepcyjnych związanych ze zdrowiem w tej grupie populacyjnej, również dzięki możliwości wykorzystania tego typu badań do tworzenia systemowo zaplanowanej edukacji związanej z poprawą lub utrzymaniem jak najlepszego stanu zdrowia oraz jakości życia osób starszych.

Literatura

- [1] Ahmed T., Haboubi N.: Assessment and management of nutrition in older people and its importance to health. *Clin. Interv. Aging*, 2010, 5, 207-216.
- [2] Bibiloni M. D. M., Karam J., Bouzas C., Aparicio-Ugarriza R., Pedrero-Chamizo R., Sureda A., González-Gross M., Tur J.: Association between physical condition and body composition, nutrient intake, sociodemographic characteristics, and lifestyle habits in older spanish adults. *Nutrients*, 2018, 10, #1608.
- [3] Backholer K., Wong E., Freak-Poli R., Walls H.L., Peeters A.: Increasing body weight and risk of limitations in activities of daily living: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.*, 2012, 13(5), 456-468.
- [4] Berg C., Lappas G., Strandhagen E., Wolk A., Toren K., Rosengren A., Aires N.: Food patterns and cardiovascular disease risk factors: the Swedish INTERGENE research program. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008, 88(2), 289-297.
- [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. W: *Polska starość*. Red. B. Synak. Wyd. Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2002, ss. 35-77.
- [7] Błędowski P., Chudek J., Grodzicki T., Gruchała M., Mossakowska M., Więcek A., Zdrojewski T.: Wyzwania dla polityki zdrowotnej i społecznej. Geneza projektów badawczych PolSenior1 i PolSenior2. W: *Badania poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem. POLSENIOR 2*. Red. P. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski. Wyd. Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 2021, ss. 19-35.
- [8] Borkent J.W., Keller H., Wham C., Wijers F., de van der Schueren M.A.E.: Cross-country differences and similarities in undernutrition prevalence and risk as measured by SCREEN II in community-dwelling older adults. *Healthcare* 2020, 8, #151.
- [9] Brennan S.L., Henry M.J., Nicholson G. C., Kotowicz M. A., Pasco J. A., Socioeconomic status and risk factors for obesity and metabolic disorders in a population-based sample of adultfemales, *Prev. Med.*, 2009, 49, 165-171.
- [10] Brzeziński M., Puzianowska-Kuźnicka M., Błeszczyńska E., Kujawska-Danecka H., Bandosz P., Zdrojewski T.: Nadwaga i otyłość. W: *POLSENIOR 2. Badanie poszczególnych obszarów stanu*

- zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem. Red. P. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski. Wyd. Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 2021, ss. 433-448.
- [11] Chen C.C.-H., Bai Y.-Y., Huang G.-H., Tang S.T.: Revisiting the concept of malnutrition in older people. *J. Clin. Nurs.*, 2007, 16(11), 2015-2026.
- [12] Chiuve S.E., Fung T.T., Rimm E.B., Hu F.B., McCullough M.L., Wang M., Stampfer M.J., Willett W.C.: Alternative dietary indices both strongly predict risk of chronic disease. *J. Nutr.*, 2012, 142, 1009-1018.
- [13] Cohen A.K., Rai, M., Rehkopf, D.H.: Educational attainment and obesity: a systematic review. *Obes. Rev.*, 2013, 14(12), 989-1005.
- [14] Corona L.P., Andrade F.C.D., Borim F.S.A., Aprahamian I., Fattori A., Cesari M., Neri A.L., Yassude M.S.: Weight loss severity and functional decline among the oldest old in the middle-income country: The FIBRA study longitudinal findings. *Clin. Nutr. ESPEN*, 2023, 53, 170-174.
- [15] Council on Practice Quality Management Committee. Identifying patients at risk: ADA's definitions for nutrition screening and nutrition assessment. *J. Am. Diet. Assoc.*, 1994, 94, 838-839.
- [16] Czarnocińska J., Jeżewska-Zychowicz M., Babicz-Zielińska E., Kowalkowska J., Wądołowska L.: Postawy względem żywności, żywienia i zdrowia a zachowania żywieniowe dziewcząt i młodych kobiet w Polsce. Wyd. UWM Press, Olsztyn 2013, ss. 23-53.
- [17] Davis M.A., Murphy S.P., Neuhaus J.M., Gee L., Quiroga S.S.: Living arrangements affect dietary quality for U.S. adults aged 50 years and older: NHANES III 1988-1994. *J. Nutr.*, 2000, 130, 2256-2264.
- [18] Dominick S.R., Olynek 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.
- [19] Friel S., Ford L.: Systems, food security and human health. *Food Secur.*, 2015, 7, 437-451.
- [20] Fung T.T., Chiuve S.E., McCullough M.L., Rexrode K.M., Logroscino G., Hu F.B.: Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. *Arch. Intern. Med.*, 2008, 168, 713-720.
- [21] Fung T.T., McCullough M.L., Newby P.K., Manson J.E., Meigs J.B., Rifai N., Willett W.C., Hu F.B.: Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, 82, 163-173.
- [22] Gajda R., Raczowska E., Mazurkiewicz D., Suliga E.: Differentiation of nutritional risk among Polish seniors based on detected lifestyle characteristics. *Nutrients*, 2022, 14(3), #607.
- [23] Gajda R., Raczowska E., Wyka J., Suliga E., Sobaś K.: Differentiation of the nutritional risk of Polish elderly people according to selected demographic characteristics and declared socioeconomic status. *Nutrients*, 2022, 14(8), #1582.
- [24] 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.
- [25] Garcia N., Miley D.D.: The oral cavity and nutrition. In: *Geriatric Nutrition*. Eds. J.E. Morley, D.R. Thomas D.R. Boca Raton: CRC Press, Boca Raton, USA, 2007, pp. 249-266.
- [26] GUS 2021. Produkt krajowy brutto i wartość dodana brutto w przekroju regionów w 2021 roku. Dostęp w Internecie [29.06.2023]. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/rachunki-narodowe/rachunki-regionalne/produkt-krajowy-brutto-i-wartosc-dodana-brutto-w-przekroju-regionow-w-2021-r-7,6.html>
- [27] Han T.S., Lee D.M., Lean M.E.J., Finn J.D., O'Neill T.W., Bartfai G., Forti G., Giwercman A., et al.: Associations of obesity with socioeconomic and lifestyle factors in middle-aged and elderly men: European Male Aging Study (EMAS). *Eur. J. Endocrinol.*, 2015, 172(1), 59-67.

- [28] Hays J.C., Keller H.H., Østbye T.: The effects of nutrition-related factors on four-year mortality among a biracial sample of community-dwelling elders in the North Carolina piedmont. *J. Nutr. Elder*, 2005, 25, 41-67.
- [29] Kang M., Boushey C.J., Shvetsov Y.B., Setiawan V.W., Paik H-Y., Wilkens L.R., Marchand L.L., Park S-Y.: Changes in diet quality and body weight over 10 years: The Multiethnic Cohort Study. *Br. J. Nutr.*, 2021, 126(9), 1389-1397.
- [30] Kawalec-Kajstura E., Rewiuk K., Puto G., Padykuła M., Reczek A.: Kompleksowa ocena stanu odżywienia osób starszych – wybrane metody i narzędzia. *Gerontologia Polska*, 2019, 27, 59-65.
- [31] Kehoe L., Walton J., Flynn A.: Nutritional challenges for older adults in Europe: current status and future directions. *Proc. Nutr. Soc.*, 2019, 78, 221-233.
- [32] Keller H.H.: The SCREEN I (Seniors in the Community: Risk Evaluation for Eating and Nutrition) index adequately represents nutritional risk. *J. Clin. Epidemiol.*, 2006, 59, 836-841.
- [33] Keller H.H.: Promoting food intake in older adults living in the community: a review. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 2007, 32, 991-1000.
- [34] Keller H.H., Goy R., Kane S.L.: Validity and reliability of SCREEN II (Seniors in the community: Risk evaluation for eating and nutrition, Version II). *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2005, 59, 1149-1157.
- [35] Keller H.H., Østbye T.: Nutritional risk and time to death; predictive validity of SCREEN (Seniors in the Community Risk Evaluation for Eating and Nutrition). *J. Nutr. Health Aging*, 2003, 7, 274-279.
- [36] Keller H.H., Østbye T., Goy R.: Nutritional risk predicts quality of life in elderly community-living Canadians. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2004, 59, 68-74.
- [37] Keller H.H., Hedley M.R., Wong Brownlee S.: The development of Seniors in the Community: Risk Evaluation for Eating and Nutrition (SCREEN). *Can. J. Diet. Pract. Res.*, 2000, 61, 67-72.
- [38] Keller H.H., McKenzie J.D., Goy R.E.: Construct validation and test-retest reliability of the seniors in the community: Risk evaluation for eating and nutrition questionnaire. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2001, 56, M552-M558.
- [39] Kiesswetter E., Colombo M.G., Meisinger Ch., Peters A., Thorand B., Holle R., Ludwig K-H., Schulz H., Grill E., Diekmann R., et al.: Malnutrition and related risk factors in older adults from different health-care setting: an enable study. *Public Health Nutr.*, 2019, 23(3), 446-456.
- [40] Kołajtis-Dołowy A., Pietruszka B., Olszanecka-Glinianowicz M., Mossakowska M.: Zwyczaje żywieniowe osób w wieku podeszłym. W: *Aspekty medyczne, psychologiczne, socjologiczne i ekonomiczne starzenia się ludzi w Polsce.* Red. M. Mossakowska, A. Więcek, P. Błądowski, Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2012, ss. 359-78.
- [41] Krzymińska-Siemaszko R., Chudek J., Suwalska A., Lewandowicz M., Mossakowska M., Kroll-Balcerzak B., 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(21), 4565-4573.
- [42] Krzymińska-Siemaszko R., Kaluźniak-Szymanowska A., Małgorzewicz S., Chudek J., Kujawska-Danecka H., Wieczorowska-Tobis K.: Niedożywienie i ryzyko niedożywienia. W: *POLSENIOR 2. Badanie poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem.* Red. P. Błądowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski. Wyd. Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 2021, ss. 401-416.
- [43] Krzymińska-Siemaszko R., Mossakowska M., Skalska A., Klich-Rączka A., Tobis S., Szybalska A., et al.: Social and economic correlates of malnutrition in Polish elderly population: the results of Pol-Senior study. *J. Nutr. Health*, 2015, 19(4), 397-402.
- [44] Kubo Y., Noguchi T., Hayashi T., Tomiyama N., Ochi A., Hayashi H.: Eating alone and weight change in community-dwelling older adults during the coronavirus pandemic: A longitudinal study. *Nutrition*, 2022, 102, #111697.

- [45] Kusama T., Nakazawa N., Kiuchi S., Kondo K., Osaka K., Aida J.: Dental prosthetic treatment reduced the risk of weight loss among older adults with tooth loss. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2021, 69, 2498-2506.
- [46] Ledikwe J.H., Smiciklas-Wright H., Mitchell D.C., Jensen G.L., Friedmann J.M., Still Ch.D.: Nutritional risk assessment and obesity in rural older adults: a sex difference. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003, 77, 551-558.
- [47] Liese A.D., Krebs-Smith S.M., Subar A.F., George S.M., Harmon B.E., Neuhouser M.L., Boushey C.J., Shap T.E., Reedy J.: The Dietary Patterns Methods Project: synthesis of findings across cohorts and relevance to dietary guidance. *J. Nutr.*, 2015, 145, 393-402.
- [48] Locher J.L., Ritchie C.S., Roth D.L., Sawyer Baker P., Bodner E.V., Allman R.M.: Social isolation, support, and capital and nutritional risk in an older sample: ethnic and gender differences. *Soc. Sci. Med.*, 2005, 60(4), 747-761.
- [49] Ludność rezydująca – Informacja o wynikach Narodowego Spisu Powszechnego Ludności i Mieszkań 2021. Dostęp w Internecie [10.03.2023]: <https://stat.gov.pl/aktualnosci/udostepnilismy-informacje-sygnalna-ludnosc-rezydujaca-informacja-o-wynikach-narodowego-spisu-powszechnego-ludnosc-i-mieszkan-2022,464,1.html>
- [50] Malta M.B., Papini S.J., Corrente J.E.: Assessment of the diets of elderly people in a city in São Paulo state – application of the Healthy Eating Index. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2013, 18(2), 377-384.
- [51] Margetts B.M., Thompson R.L., Elia M., Jackson A.A.: Prevalence of risk of undernutrition is associated with poor health status in older people in the UK. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003, 57, 69-74.
- [52] Mills S., Brown H., Wrieden W., White M., Adams J.: Frequency of eating home cooked meals and potential benefits for diet and health: cross-sectional analysis of a population-based cohort study, *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.*, 2017, 14, 109.
- [53] Milne A.C., Potter J., Vivanti A., Avenell A.: Protein and energy supplementation in elderly people at risk from malnutrition. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2009, 2, CD003288.
- [54] Mitchell E., Walker R.: Global ageing: Successes, challenges and opportunities. *Br. J. Hosp. Med.* 2020, 81, 1-9.
- [55] Morrison J.M., Laur C.V., Keller H.H. 2019. SCREEN III: working towards a condensed screening tool to detect nutrition risk in community-dwelling older adults using CLSA data. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2019, 73, 1260-1269.
- [56] National Seniors Council. Report of the National Seniors Council on Low Income Among Seniors. (Human Resources and Skills Development Canada, Catalogue HS1-9/2008). Dostęp w Internecie: [26.07.2023]: <https://www.canada.ca/content/dam/nsc-cna/documents/pdf/policy-and-program-development/publications-reports/2009/low-income-seniors/low-income-seniors.pdf>
- [57] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Rising rural body-mass index is the main driver of the global obesity epidemic in adults. *Nature*, 2019, 569 (7755), 260-2644.
- [58] Niedźwiecka E., Wądołowska, L.: Analiza urozmaicenia spożycia żywności w kontekście statusu socjoekonomicznego polskich osób starszych. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2010, 91, 576-584.
- [59] Nishioka S., Wakabayashi H.: Interaction between malnutrition and physical disability in older adults: is there a malnutrition-disability cycle? *Nutr. Rev.*, 2023, 81(2), 191-205.
- [60] Older Adult Nutrition Screening. Dostęp w Internecie [26.07.2023]: <https://olderadultnutritionscreening.com>
- [61] Power L., Mullally D., Gibney E.R., Clarke M., Visser M., Volkert D.: A review of the validity of malnutrition screening tools used in older adults in community and healthcare settings – A MaNuEL study. *Clin. Nutr. ESPEN*, 2018, 24, 1-13.

- [62] Ramage-Morin P.L., Garriguet D.: Nutritional risk among older Canadians. *Health Rep.*, 2013, 24(3), 3-13.
- [63] Ramage-Morin P.L., Gilmour H., Rotermann M.: Nutritional risk, hospitalization and mortality among community-dwelling Canadians aged 65 or older. *Health Rep.*, 2017, 28, 17-27.
- [64] Saunders J., Smith T.: Malnutrition: causes and consequences. *Clin. Med.*, 2010, 10, 6, 624-627.
- [65] Seidell J.C., Visscher T.L.: Body weight and weight change and their health implications for the elderly. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, 54(3), S33-39.
- [66] Sharkey J.R.: Nutrition risk screening: The interrelationship of food insecurity, food intake, and unintentional weight change among homebound elders. *J. Nutr. Elder.*, 2004, 24, 19-34.
- [67] Sharkey J.R., Schoenberg N.E.: Variations in nutritional risk among black and white women who receive home-delivered meals. *J. Women Aging*, 2002, 14, 99-119.
- [68] Soenen S., Chapman I.M.: Body weight, anorexia and undernutrition in older people. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2013, 14(9), 642-648.
- [69] Stanisz A.: *Przystępny kurs statystyki. Tom 3. Analizy wielowymiarowe*. Wydawnictwo StatSoft. Kraków 2007.
- [70] StatSoft Poland. *Statistica 13.1*. Dostęp w Internecie [02.10.2021]: https://www.statsoft.pl/statistica_13/.
- [71] Suzuki K., Normura T., Sakurai M., Sugihara N., Yamanaka S., Matsukubo T.: Relationship between number of present teeth and nutritional intake in institutionalized elderly. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 2005, 46 (4), 135-143.
- [72] Sytuacja osób starszych w Polsce w 2020 r. Dostęp w Internecie [27.06.2023]: https://stat.gov.pl/files/gfx/portalinformacyjny/pl/defaultaktualnosc/6002/2/3/1/sytuacja_osob_starszych_w_polsce_w_2020_r.pdf.
- [73] Szybalska A., Hajduk A., Kujawska-Danecka H., Mossakowska M.: Samoocena stanu zdrowia. W: *POLSENIOR 2. Badanie poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem*. Red. P. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski, T. Wyd. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk 2021, pp. 761-771.
- [74] Tani Y., Fujiwara T., Kondo K.: Cooking skills related to potential benefits for dietary behaviors and weight status among older Japanese men and woman: a cross-sectional study from the JAGES. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.*, 2020, 17(82), 1-12.
- [75] Tani Y., Kondo N., Noma H., Miyaguni Y., Saito M., Kondo K.: Eating alone yet living with others is associated with mortality in older men: The JAGES cohort survey. *J. Gerontol. B Psychol. Sci. Soc. Sci.*, 2018, 73, 1330-1334.
- [76] Tszuzaki J., Maskarinec G., Mapa V., Shvetsov Y.B., Park S-Y., Monroe K.R., Lim U., Le Marchand L., Boushey C.J.: Diet quality and body mass index over 20 years in the multiethnic cohort. *J. Acad. Nutr. Diet.* 2023, 1-11.
- [77] U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans, 8th ed. Dostęp w Internecie: [21.11.2021]: <https://health.gov/our-work/food-nutrition/previous-dietary-guidelines/2015>.
- [78] Wądołowska L., Kowalkowska J., Lonnie M., Czarnocinska J., Jezewska-Zychowicz M., Babicz-Zielinska E.: Associations between physical activity patterns and dietary patterns in a representative sample of Polish girls aged 13-21 years: a cross-sectional study (GEBaHealth Project). *BMC Public Health*, 2016, 16(1), 698.
- [79] Wernio E., Dardzińska J.A., Szybalska A., Małgorzewicz S.: Zwyczaje żywieniowe. W: *POLSENIOR 2. Badanie poszczególnych obszarów stanu zdrowia osób starszych, w tym jakości życia związanej ze zdrowiem*. Red. P. Błędowski, T. Grodzicki, M. Mossakowska, T. Zdrojewski. Wyd. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk 2021, pp. 761-771.

- [80] White J.V., Ham R.J., Lipschitz D.A., Dwyer J.T., Wellman N.S.: Consensus of the Nutrition Screening Initiative: risk factors and indicators of poor nutritional status in older Americans. *J. Am. Diet. Assoc.*, 1991, 91, 783-787.
- [81] World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA. J. Am. Med. Assoc.* 2013, 310, 2191-2194.
- [82] Zakłady stacjonarne pomocy społecznej w 2021 r. Dostęp w Internecie [26.07.2023]: <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/warunki-zycia/ubostwo-pomoc-spoieczna/zaklady-stacjonarne-pomocy-spoiecznej-w-2021-roku,18,6.html>.
- [83] Zaragoza-Martí A., Ruiz-Rabredillo N., Sánchez-SanSegundo M., Albaladejo-Blázquez N., Hurtado-Sánchez J.A., Ferrar-Cascales R.: Eating habits in older adults: compliance with the recommended daily intakes and its relationship with sociodemographic characteristics, clinical conditions, and lifestyle, *Nutrients*, 2020, 12(2), 446, 2-20.

THE RELATIONSHIP BETWEEN NUTRITIONAL RISK FACTORS, DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS AND A SOCIO-ECONOMIC STATUS IN A STUDY GROUP OF COMMUNITY-DWELLING OLDER ADULTS IN POLAND

S u m m a r y

Background. A significant percentage of older people in Poland experience a high nutritional risk, which is determined by various factors. The aim of the study was to assess the relationship between nutritional risk factors, selected demographic characteristics and a socio-economic status. The SCREEN-14 questionnaire was used to identify nutritional risk factors. Questions on gender, age, region of residence, place of residence and personal household structure were used to characterize demographics. A socio-economic status was assessed using questions on the self-assessment of a material situation, education, social activity and family relations. Based on a cluster analysis using Ward's hierarchical classification of variables, two clusters of dietary risk factors emerged. A Chi-square test was used to verify differences between the variables. A logistic regression analysis was used to evaluate the relationship between the variables.

Results and conclusions. It was shown that people belonging to cluster 1, described as "Weight gain and unfavorable dietary beliefs and behaviors", were more likely to live in small towns, alone or with a partner but without a family. Individuals belonging to cluster 2, described as "Weight loss and its perception and functional limitations", were more likely to have a high nutritional risk, were more likely to be aged 75 or older, living alone or living with a family (with or without a partner). Respondents with a low socio-economic status also belonged to this cluster. Decision-makers in public health policy planning should take into account data and indicators for nutritional risks and their determinants to increase the effectiveness of efforts to reduce negative changes in the health and quality of life of older people.

Key words: nutritional risk, demographic characteristics, socio-economic status, older adults ☒

MONIKA MAJOCH, JUDYTA HOMONCIK, ANNA MIKULEC,
IZABELLA WĘGRZYN

THE PREVALENCE AND SELECTED RISK FACTORS OF *ORTHOOREXIA NERVOSA* DISORDER USING THE ORTO-15 TEST

S u m m a r y

Background. Although the phenomenon of orthorexia is widespread, its prevalence is hard to estimate. The aim of the study was to attempt to determine the occurrence of orthorexia in the study group and to assess the associations between selected risk factors and the prevalence of orthorexia. The survey was conducted in April 2023 among students of the Faculty of Health Sciences of the Academy of Applied Sciences in Nowy Sącz and via social media. A diagnostic survey method was employed using a questionnaire technique developed by the authors and the ORTO-15 questionnaire. Two cut-off points of < 40 and < 35 points were used. The Mann-Whitney U test, the Chi-Square test of independence and Cronbach's alpha were carried out to analyse the results.

Results and conclusions. The prevalence of *orthorexia nervosa* for a cut-off point of < 40 points was estimated at 77.78 %. Lowering the cut-off point to < 35 points resulted in a decrease in the prevalence of orthorexia in the study group to 24.69 %. For a cut-off point of < 40 points, a statistically significant relationship was obtained between the presence of orthorexia and the presence of chronic diseases. For a cut-off point of < 35 points, statistically significant relationships were obtained between the prevalence of orthorexia and BMI and between the presence of orthorexia and complaints. The other factors were not significantly different for any of the assumed cut-off points. Based on the results, the authors emphasize the need for further research on the use and creation of the useful adaptation of the ORTO-15 test in determining the prevalence and risk factors of orthorexia.

Key words: *orthorexia nervosa*, ORTO-15 test, BMI, medical education, chronic diseases

Introduction

Orthorexia nervosa is an eating disorder involving obsessive, strict adherence to a self-imposed healthy diet, paradoxically leading to multidimensional negative psycho-

Dr M. Majoch ORCID: 0000-0002-7557-8881, Katedra Pielęgniarstwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu, ul. Kościuszki 1G, 33-300 Nowy Sącz; mgr J. Homoncik ORCID: 0009-0001-2787-6104, Kolo Naukowe Promocji Zdrowia, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu, ul. Kościuszki 1G, 33-300 Nowy Sącz; dr inż. A. Mikulec ORCID: 0000-0002-2737-5967, Katedra Zarządzania i Inżynierii Produkcji, Wydział Nauk Inżynieryjnych; Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu, ul. Zamenhofa 1a, 33-300 Nowy Sącz mgr. I. Węgrzyn ORCID: 0000-0002-0253-1388, Katedra Pielęgniarstwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu, ul. Kościuszki 1G, 33-300 Nowy Sącz. Kontakt: mmajoch@ans-ns.edu.pl

physiological effects [1, 9, 10, 13, 16, 20, 22, 29]. It has not yet been recognized as a distinct disease entity in the ICD-10/ICD-11 and DSM-5 classifications, but is the subject of increasing research fields of psychology, psychiatry and medicine [13].

The pathological behavior of people affected by orthorexia focuses on the aspect of nutrition, including the detailed analysis of the composition of products consumed and the gradual elimination of those which may raise an affected person's doubts about their potentially negative impact on health. Planning the type, composition and handling of meals becomes the overriding goal each day, and the rejection of more and more products from the menu on the grounds that they are harmful can lead to serious health consequences, including malnutrition and secondary diseases resulting from nutritional deficiencies [7, 10, 19, 20, 21, 22, 28].

Available scientific reports have increasingly focused on this recently described disorder [20], but research findings on orthorexia are inconclusive. The lack of a standardized tool with high reliability and diagnostic accuracy is highlighted. The screening test that is mostly used is the ORTO-15 test, which has seen many modifications, both in terms of questions it takes from the original version and the interpretation of scores. It has been claimed that this test overdiagnoses the phenomenon, which has led to calls for an urgent need to modify this tool because of epidemiological data showing increasing numbers of cases of orthorexia [3, 12, 13, 16, 19, 20, 22, 23, 28, 29].

The factors that are related to the development of this disorder are also discussed, and those particularly often described include: age, gender, BMI, educational profile (especially medical professions including dietitians) [1, 2, 7, 10, 13, 16, 18, 20, 21, 25, 27, 28, 29, 20, 21, 22, 23, 27, 28, 29, 30], and recent reports particularly emphasize the potential importance of chronic diseases and complaints requiring diet therapy, while also pointing out the paucity of data in this aspect [11, 17, 26]. Research findings on potential risk factors are highly divergent and one reason for this problem is attributed to the inadequacies of the ORTO-15 test [3, 7, 9, 19, 20, 21, 22, 23].

The ORTO-15 test, the most popular and internationally used screening test to diagnose orthorexia, was used in the present study. In the literature, it has been critically discussed by many authors in terms of its repeatedly presented lack of internal consistency and poor psychometric design, having ambiguous and differently interpreted wording by respondents, and the problem of a possibly inappropriate cut-off point of indicating orthorexia resulting in overdiagnosis of the phenomenon [1, 3, 7, 9, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 29]. However, none of the less popular tools used to date, such as the EHQ eating habits questionnaire, the Dusseldorf Orthorexia Scale – DOS and others, provides a more suitable alternative due to similar limitations recognized by their authors or other researchers [1]. As the phenomenon of orthorexia appears to be increasing [3, 22], due to the pressing need for a reliable tool for the medical assessment and verification of this disorder, the ORTO-15 test has motivated

groups of researchers internationally to modify the number and type of questions included in it, as well as cut-off points used, in response to the psychometric values of the test obtained during analyses [3, 12, 13, 16, 19, 22, 23, 28].

The aim of the study was to attempt to estimate the prevalence of orthorexia and identify associations between selected risk factors, i.e. the degree and profile of education, gender, age, BMI, complaints, chronic diseases and the presence of orthorexia, using the ORTO-15 test at cut-off levels of < 40 and < 35 points.

The following hypotheses were formulated:

- H1: The prevalence of orthorexia is significantly associated with having a medical degree, studying in this field.
- H2: The prevalence of orthorexia is significantly associated with the level of education.
- H3: The prevalence of orthorexia is significantly associated with presenting a selected sociodemographic characteristic, i.e. age, gender.
- H4: The prevalence of orthorexia is significantly associated with BMI value.
- H5: Having chronic diseases or somatic complaints is significantly associated with the presence of orthorexia.

Material and methods

The study group consisted of students and staff of the Faculty of Health Sciences at the Academy of Applied Sciences in Nowy Sącz and volunteers recruited via social media. Interested persons were directed to a questionnaire, which they were asked to complete if they met the inclusion criteria. The inclusion criteria included adult students over 18 years of age. Respondents gave informed and voluntary consent to participate in the survey. They also confirmed that they were familiar with the risk factors associated with participation in the CAWI survey.

A diagnostic survey method based on a questionnaire developed by the authors and the standardized ORTO-15 questionnaire were used to conduct the study [25].

The authors' questionnaire attempted to characterize the general population participating in the study and included questions concerning age, gender, height, weight, the subjective perception of appearance based on body weight, an educational level and profile, occupational status, the field of study, being diagnosed with chronic diseases and experiencing complaints. A BMI was calculated based on height and weight. Given these details, study participants were classified into the following groups: < 18.50 underweight, 18.50-24.99 normal, 25.00-29.99 overweight, ≥ 30.00 obese [31].

The ORTO-15 test is a tool consisting of 15 questions respondents are to answer using a 4-point scale: always, often, sometimes, never. Responses indicating the risk of orthorectic behavior score 1 point, while healthy behavior scores 4 points. The maximum possible number of points to be obtained is 60. A cut-off point of < 40 points is

most often taken as the cut-off point. However, there are reports of a cut-off point set at < 45 , < 35 or < 33 points [4, 5, 6, 12, 15, 17, 18, 19, 22]. For diagnosing orthorexia, in addition to the < 40 points cut-off point suggested by the first authors [14], the most common cut-off point is < 35 points. It is a kind of consensus compared to other suggested extreme values [4, 5, 6, 12, 15, 17, 18, 19, 22]. This cut-off point was also used in our study. The Cronbach's alpha obtained for the full 15-item question scale was assessed by the authors of the current study as acceptable (0.72).

An analysis of the results was performed using the programs: Statistica 13.3 (Tibco, Krakow, Poland) and the Microsoft Excel 365. For all analyses, significance was set at $p \leq 0.05$. The Mann-Whitney U Test was used to compare means for more than two independent groups. The chi-square test with Yates correction was used to determine the effect of age, gender, BMI, educational level and profile on the frequency of responses to individual questions. To assess the reliability of the test, Cronbach's alpha was calculated. A result of $\alpha = 0.72$ was obtained, indicating that the test is reliable.

Results and discussion

The size of the study group was 405 people, including 348 women (85.93 %) and 57 men (14.07 %). Four age groups were identified during the study: 18-25, 26-35, 36-45 and ≥ 46 years old. The age breakdown of the respondents, in view of each age group, is shown in Figure 1.

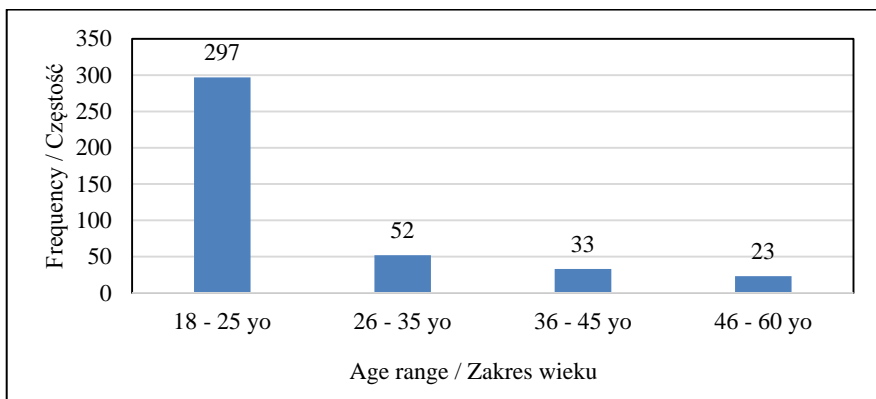


Fig. 1. Age groups of respondents

Rys. 1. Przynależność osób badanych do poszczególnych grup wiekowych

The mean BMI in the study group was 23.28 ± 4.05 kg/m² (Table 1). There were 203 subjects (50.15 %) who declared that they had a university degree, 202 subjects (49.88 %) had secondary or vocational education level. Of 174 people working, 110 (63.22 %) were in the medical profession, 64 (36.78 %) had non-medical education. A

total of 231 students took part in the survey – 139 students (60.17 %) from medical faculties and 92 students (39.83 %) from non-medical faculties.

Chronic diseases were declared by 101 respondents (24.94 %), with 109 people (26.91 %) reporting they experienced a variety of medical conditions.

Table 1. Characteristics of the study group by BMI

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy z podziałem na BMI

BMI value / Wartość BMI	Interpretation / Interpretacja	Frequency / Częstość
≤ 18.49	Underweight / Niedowaga	25 (6.17 %)
18.50 – 24.99	Standard / Standard	270 (66.67 %)
25.00 – 29.99	Overweight / Nadwaga	79 (19.51 %)
≥ 30.00	Obesity / Otyłość	31 (7.65 %)
Total / Razem		405

Analysis of ORTO-15 test results

The average ORTO-15 test score for the entire study group was 36.70 ± 3.50 points. A detailed breakdown of individual scores is shown in Figure 2. The prevalence of orthorectic tendencies at a cut-off point of < 40 points was 77.78 % (315 subjects). For a cut-off point of < 35 points, orthorectic tendencies were demonstrated by 24.69 % (100 people). As many as 50 % of the respondents were in the scoring range of 35-39 points (Q1 and Q3) (Figure 2). The large discrepancy in the occurrence of orthorectic tendencies for the cut off points adopted is due to the breakdown of the number of points obtained in the ORTO-15 test in the study group.

The analysis of the relationship between selected anthropometric factors and the occurrence of orthorectic tendencies showed no statistical significance at a cut-off point of < 40 points for any of the factors analyzed. There was also no statistically significant relationship between age and gender and the presence of orthorectic tendencies at a cut-off point of < 35 points. The result of the chi-square test indicated a significant relationship ($p = 0.02$) between a BMI and the occurrence of orthorectic tendencies in the study group at a cut-off point of 35 points. It should be noticed that the subjects with a BMI value within the normal range had lower mean scores in the ORTO-15 test compared to those with a BMI value outside the normal range (36.50 vs. 37.07 points). As identified by the number of scores in the ORTO-15 test, the percentage of subjects with orthorectic tendencies was higher in the group of subjects with a BMI within the normal range than in the group of those with a BMI outside the normal range (28.15 % vs. 17.78 %) (Table 2).

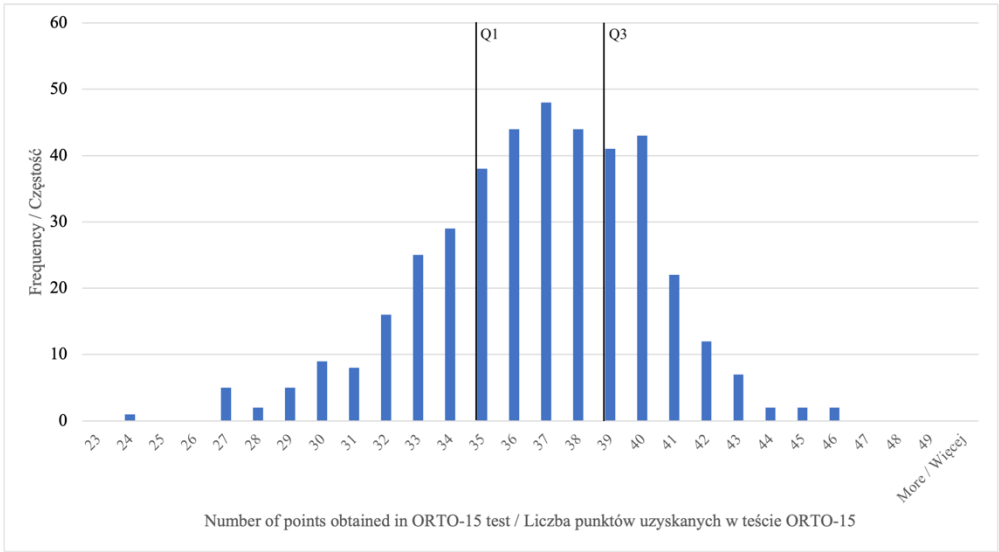


Fig. 2. Breakdown of results obtained in the ORTO-15 test in the whole study population
 Rys. 2. Rozkład wyników uzyskanych w teście ORTO-15 w całej populacji badanej

Neither the degree or profile of education, nor the profile of studies in the study conducted are statistically significant predictors of the development of orthorexia, as confirmed at both analyzed cut-off levels (Table 3). To deepen the analysis, a relationship between an educational profile and the frequency of responses to individual questions was determined (Table 4, Table 5). A comparison of responses to individual questions given by people with and without orthorexia broken down by educational profile was performed using the Mann-Whitney U test (Table 6, Table 7). Given the fact that the analysis carried out in this study was extensive, only statistically significant responses were obtained from the respondents' answers due to having or not having an orthorectic disorder.

A statistically significant relationship was found, with an assumed cut-off point of < 40 points, between the presence of chronic diseases such as diabetes, hypertension, hypothyroidism, endometriosis, PCOS, ulcerative colitis and others, and the risk of developing orthorexia ($p = 0.04$). Mean scores obtained in the ORTO-15 test were higher in the group of subjects who were not diagnosed with chronic diseases compared to the group of subjects being diagnosed with comorbidities (37.04 vs. 35.61 points). The percentage of subjects with orthorectic tendencies was, in turn, 85.15 % in those with chronic conditions and 75.33 % in those without additional conditions. This relationship was not confirmed with a cut-off point set at < 35 points (Table 8).

Table 2. Selected demographic factors and the prevalence of orthorexia
Tabela 2. Wybrane czynniki demograficzne a występowanie tendencji ortorektycznych

Variable / Zmienna	Average ORTO-15 test score (points) / Średni wynik testu ORTO-15 (pkt)	Standard deviation / Odchylenie standardowe	Orthorectic tendencies (< 40 points) (<i>n</i>) / Tendencje ortorektyczne (< 40 punk- tów) (<i>n</i>)	No orthorectic tendencies (< 40 points) (<i>n</i>) / Brak tendencji ortorektycznych (< 40 punktów) (<i>n</i>)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value	Orthorectic tendencies (< 35 points) (<i>n</i>) / Tendencje ortorektyczne (< 35 punk- tów) (<i>n</i>)	No orthorectic tendencies (< 35 points) (<i>n</i>) / Brak tendencji ortorektycznych (< 35 punktów) (<i>n</i>)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value
Age / Wiek										
≤ 25 yo / ≤ 25 lat	36.70	3.50	230	67	0.07	0.79	71	226	0.37	0.54
> 25 yo / > 25 lat	36.67	3.57	85	23			29	79		
Gender / Płeć										
Female / Kobieta	36.61	3.47	275	73	2.22	0.14	88	260	0.47	0.49
Male / Mężczyzna	37.14	3.78	40	17			12	45		
BMI / BMI										
Standard / Norma	36.50	3.57	213	57	0.58	0.45	76	194	5.21	0.02
Outside the norm / Poza normą	37.07	3.39	102	33			24	111		

Table 3. Educational level and profile vs prevalence of orthorectic tendencies

Tabela 3. Poziom i profil wykształcenia a występowanie tendencji ortorektycznych

Variable / Zmienna	Average ORTO- 15 test score (points) / Średni wynik testu ORTO- 15 (pkt)	Standard deviation / Odchylenie standardowe	Orthorectic tendencies (< 40 points) (n) / Tendencje ortorektyczne (< 40 punk- tów) (n)	No orthorectic tendencies (< 40 points) (n) / Brak tendencji ortorektycznych (< 40 punktów) (n)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value	Orthorectic tendencies (< 35 points) (n) / Tendencje ortorektyczne (< 35 punk- tów) (n)	No orthorectic tendencies (< 35 points) (n) / Brak tendencji ortorektycznych (< 35 punktów) (n)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value
Education level / Wykształcenie										
Higher / Wyższe	36.70	3.69	159	44	0.07	0.79	46	157	0.90	0.34
Secondary / Średnie	36.67	3.33	156	46			54	148		
Education profile / Profil wykształcenia										
Medical / Medyczny	36.74	3.53	83	27	0.41	0.52	24	86	0.06	0.80
Non-medical / Niemedyczny	36.92	3.62	51	13			15	49		
Field of study / Profil studiów										
Medical / Medyczny	36.72	3.29	106	33	0.90	0.34	34	105	0.68	0.41
Non-medical / Niemedyczny	36.41	3.79	75	17			27	65		

Table 4. Educational profile vs frequency of responses to individual questions. Cut-off point < 40 points, questions with statistically significant answers

Tabela 4. Profil wykształcenia a częstość udzielania odpowiedzi na poszczególne pytania. Punkt odcięcia < 40 pkt, pytania zawierające odpowiedzi istotne statystycznie

	% answers / % wskazań				p*
	always / zawsze	often / często	sometimes / czasem	never / nigdy	
4. Are your eating choices driven by your worries about your health status? / 4. Czy wybierasz produkty spożywcze kierując się troską o swoje zdrowie?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	10.60	32.70	14.40	2.20	0.03
non-medical / niemedyczny	6.10	25.60	8.30	0.00	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	1.10	15.60	42.20	7.80	0.59
non-medical / niemedyczny	0.00	11.10	17.80	4.40	
8. Do you allow yourself to break any eating rules you adhere to? / 8. Czy pozwalasz sobie na łamanie wyznawanych zasad dotyczących odżywiania?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	0.00	20.80	34.90	4.20	0.02
non-medical / niemedyczny	1.60	11.20	24.70	2.60	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	3.30	35.60	24.40	3.30	0.33
non-medical / niemedyczny	2.20	14.40	11.10	5.60	
12. Do you think that eating healthy food may improve your appearance? / 12. Czy uważasz, że spożywanie zdrowej żywności może poprawić Twój wygląd?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	28.50	22.10	8.00	1.30	0.00
non-medical / niemedyczny	24.40	14.40	1.30	0.00	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	17.80	28.90	16.70	3.30	0.19
non-medical / niemedyczny	5.60	14.40	13.30	0.00	

* χ^2

Table 5. Educational profile vs frequency of responses to individual questions. Cut-off point < 35 points, questions with statistically significant answers

Tabela 5. Profil wykształcenia a częstość udzielania odpowiedzi na poszczególne pytania. Punkt odjęcia < 35 pkt, pytania zawierające odpowiedzi istotne statystycznie

	% answers / % wskazań				p*
	always / zawsze	often / często	sometimes / czasem	never / nigdy	
8. Do you allow yourself to break any eating rules you adhere to? / 8. Czy pozwalasz sobie na łamanie wyznawanych zasad dotyczących odżywiania?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	0.00	18.40	35.70	2.00	0.02
non-medical / niemedyczny	2.00	5.10	33.70	3.10	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	1.00	26.00	31.60	4.60	0.46
non-medical / niemedyczny	1.60	14.10	17.80	3.30	
12. Do you think that eating healthy food may improve your appearance? / 12. Czy uważasz, że spożywanie zdrowej żywności może poprawić Twój wygląd?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	40.80	13.30	2.00	0.00	0.31
non-medical / niemedyczny	33.70	10.20	0.00	0.00	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	21.40	27.00	12.50	2.30	0.03
non-medical / niemedyczny	15.80	15.80	5.30	0.00	
14. Do you think that there is unhealthy food on the market? / 14. Czy sądzisz, że na rynku dostępne są niezdrowe produkty żywnościowe?					
Orthorexia / Ortoreksja					
medical / medyczny	44.90	6.10	5.10	0.00	0.02
non-medical / niemedyczny	33.70	10.20	0.00	0.00	
No orthorexia / Brak ortoreksji					
medical / medyczny	31.90	23.70	7.60	0.00	0.02
non-medical / niemedyczny	17.80	13.20	5.30	0.70	

* χ^2

The presence of medical complaints such as abdominal pain, headaches, joint pain, gastrointestinal complaints, fatigue, lethargy and others is not a statistically significant risk factor for the development of orthorexia with a cut-off point of < 40 points. Lowering the cut-off point to < 35 points results in the demonstration of a relationship between orthorectic tendencies and the analyzed factor ($p = 0.02$). The re-

spondents who did not declare the presence of any medical complaints had higher mean scores in the ORTO-15 test than those reporting complaints (37.07 vs. 36.50 points). In the group without complaints, the percentage of orthorectic tendencies was 21.62 %. Among subjects reporting complaints, it was significantly higher, standing at 32.73 % (Table 8).

Due to the fact that it was difficult to isolate factors showing a statistically significant relationship with the presence of orthorectic tendencies and the high percentage of diagnosed orthorectic tendencies with a cut-off point of < 40 points, the authors undertook an analysis of the usefulness of the ORTO-15 test as a tool for diagnosing orthorexia at the level of individual questions. The internal consistency of the ORTO-15 test was established using Cronbach's alpha at 0.72 (acceptable). A descriptive analysis of the values obtained for individual questions was carried out. The questions that showed a mean score of more than 2.67 points were considered behaviors representing a risk of developing orthorexia (Table 9). The 'risk' statements identified during the analysis were as follows: excessive concentration on meal preparation, the influence of mood on food choices and emotions experienced when eating meals that break the dietary rules.

Orthorexia nervosa, as an eating disorder that is not fully understood, arouses a great deal of controversy, from its actual prevalence to the nosological concepts inherent in its classification, to the screening tools themselves used to identify it. The present study, despite its attempt to estimate the prevalence of the phenomenon, as well as selected risk factors for its occurrence, is another example of discrepancy in data obtained from results of individual studies.

In the current study, among a sample of 405 respondents randomly presenting to the general population, the prevalence of orthorexia was 77.78 % and 24.69 % respectively (for the cut-off points of < 40 and < 35 adopted). Similar discrepancies in the prevalence of orthorexia are observed for many other studies, ranging from 0 % [26] to even around 97 %, depending on the group being studied [1, 2, 3, 6, 7, 9, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29]. The most frequently identified risk groups in which the aforementioned values appeared to be the highest were, paradoxically, dietitians and those studying this field of study (in one study, in a group of Brazilian dietetic students, up to 88.7 % of individuals obtained ORTO-15 test result allowing the diagnosis of orthorexia [1, 15, 19, 23]); the people who choose vegetarian or vegan diet [22]; the people who are athletes [21] and attend the gym [13]; those who use Instagram/Twitter (in a British study, orthorexia was present among 49 % of 680 social media users following accounts about healthy eating [27]); customers of organic shops (in an Italian study, 69.4 % and 23.1 % for the ORTO-15 test cut-off scores of < 40 and < 35, respectively, among 121 individuals [29]);, medical and nursing students (in

Table 6. Comparison of responses to individual questions given by people with and without orthorexia broken down by educational profile. Cut-off < 40 points, questions with statistically significant answers

Tabela 6. Porównanie odpowiedzi na poszczególne pytania osób z ortoreksją i bez ortoreksji w podziale na profil wykształcenia. Punkt odcięcia < 40 pkt, pytania zawierające odpowiedzi istotne statystycznie

Questions/ Pytania	orthorexia / ortoreksja			no orthorexia / brak ortoreksji		
	medical / medyczny	non-medical / niemedyczny		medical / medyczny	non-medical / niemedyczny	
	average / średnia	average / średnia	p*	average / średnia	average / średnia	p*
2. When you go in a food shop do you feel confused? / 2. Czy czujesz się zdezorientowany/-na w sklepie spożywczym?	1.67	1.83	0.05	1.87	1.83	1.00
12. Do you think that eating healthy food may improve your appearance? / 12. Czy uważasz, że spożywanie zdrowej żywności może poprawić Twój wygląd?	1.70	1.42	0.00	2.08	2.23	0.31
14. Do you think that on the market there is also unhealthy food? / 14. Czy sądzisz, że na rynku dostępne są niezdrowe produkty żywnościowe?	1.52	1.46	0.50	1.62	2.00	0.03
15. At present, are you alone when having meals? / 15. Czy obecnie spożywasz posiłki w samotności?	2.67	2.52	0.04	2.75	2.77	0.99

* UMW

Table 7. Comparison of responses to individual questions given by people with and without orthorexia broken down by educational profile. Cut-off < 35 points, questions with statistically significant answers

Tabela 7. Porównanie odpowiedzi na poszczególne pytania osób z ortoreksją i bez ortoreksji w podziale na profil wykształcenia. Punkt odcięcia < 35 pkt, pytania zawierające odpowiedzi istotne statystycznie

Questions/ Pytania	orthorexia / ortoreksja			no orthorexia / brak ortoreksji		
	medical / medyczny	non-medical / niemedyczny		medical / medyczny	non-medical / niemedyczny	
	average / średnia	average / średnia	p*	average / średnia	average / średnia	p*
12. Do you think that eating healthy food may improve your appearance? / 12. Czy uważasz, że spożywanie zdrowej żywności może poprawić Twój wygląd?	1.56	1.28	0.59	1.63	1.85	0.04

* UMW

Table 8. Chronic diseases and medical complaints and the presence of orthorexia

Tabela 8. Choroby przewlekłe i dolegliwości chorobowe a występowanie tendencji ortorektycznych

Variable / Zmienna	Average ORTO-15 test score (points) / Średni wynik testu ORTO-15 (pkt)	Standard deviation / Odchylenie standardowe	Orthorectic tendencies (< 40 points) (n) / Tendencje ortorektyczne (< 40 pkt) (n)	No orthorectic tendencies (< 40 points) (n) / Brak ten- dencji ortorektycznych (< 40 pkt) (n)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value	Orthorectic tendencies (< 35 points) (n) / Tendencje ortorektyczne (< 35 pkt) (n)	No orthorectic tendencies (< 35 points) (n) / Brak ten- dencji ortorektycznych (< 35 pkt) (n)	Chi- square / Chi- kwadrat	p-Value / p-Value
Chronic diseases / Choroby przewlekłe										
Yes / Tak	35.61	3.67	86	15	4.23	0.04	31	70	2.61	0.11
No / Nie	37.04	3.39	229	75			69	235		
Complaints / Dolegliwości chorobowe										
Yes / Tak	35.89	3.64	91	18	2.81	0.09	36	73	5.57	0.02
No / Nie	36.98	3.42	224	72			64	232		

* UMW

Table 9. Descriptive statistics of scores obtained from each question of the ORTO-15 test

Tabela 9. Statystyka opisowa wartości punktowych uzyskiwanych w poszczególnych pytaniach kwestionariusza ORTO-15

	Average / Średnia	Median / Mediana	Mode / Moda	Q1 / Q1	Q3 / Q3	Standard deviation / Odchylenie standardowe
1. When eating, do you pay attention to calorific value of food? / 1. Czy zwracasz uwagę na wartość kaloryczną spożywanych produktów żywnościowych?	2.89	3.00	3.00	2.00	4.00	1.02
2. Do you feel confused when you go to a grocery store? / 2. Czy czujesz się zdezorientowany/-na w sklepie spożywczym?	1.76	2.00	1.00	1.00	2.00	0.82
3. Have you thought very often about food over the past three months? / 3. Czy przez ostatnie 3 miesiące szczególnie często myślałeś o jedzeniu?	2.67	3.00	3.00	2.00	3.00	0.86
4. Are your eating choices driven by your worries about your health status? / 4. Czy wybierasz produkty spożywcze kierując się troską o swoje zdrowie?	2.27	2.00	2.00	2.00	3.00	0.74
5. Is the taste of food more important than its quality when you evaluate food? / 5. Czy podczas oceny jedzenia smak jest dla Ciebie ważniejszy niż jego jakość?	2.59	3.00	Multi.	2.00	3.00	0.74
6. Are you willing to spend more money to have healthier food? / 6. Czy jesteś skłonny/-a wydać więcej pieniędzy, aby nabyć zdrowsze jedzenie?	2.37	2.00	2.00	2.00	3.00	0.74
7. Does thinking about food worry you for more than three hours a day? / Czy myślenie o jedzeniu trapi Cię przez więcej niż 3 godziny dziennie?	3.26	3.00	4.00	3.00	4.00	0.86

8. Do you allow yourself to break any eating rules you adhere to? / 8. Czy pozwalasz sobie na łamanie wyznawanych zasad dotyczących odżywiania?	2.34	2.00	2.0	2.00	3.00	0.65
9. Do you think your mood affects your eating behavior? / 9. Czy uważasz, że aktualny nastrój ma wpływ na Twoje zachowania żywieniowe?	2.78	3.00	3.00	2.00	3.00	0.79
10. Do you think that the conviction that eating only healthy food increases your self-esteem? / 10. Czy uważasz, że przekonanie o zdrowym odżywianiu zwiększa Twoją samoocenę?	2.52	2.00	2.00	2.00	3.00	0.90
11. Do you think that eating healthy food changes your lifestyle (frequency of eating in a restaurant, at your friends' home...)? / 11. Czy sądzisz, że zdrowe odżywianie wpływa na Twój styl życia (częstotliwość wyjść do restauracji, do przyjaciół ...)?	2.61	3.00	2.00	2.00	3.00	0.95
12. Do you think that consuming healthy food may improve your appearance? / 12. Czy uważasz, że spożywanie zdrowej żywności może poprawić Twój wygląd?	1.71	2.00	1.00	1.00	2.00	0.77
13. Do you feel guilty when you break eating rules you adhere to? / 13. Czy przeżywasz poczucie winy, gdy dokonujesz odstępstw od wyznaczonych zasad odżywiania?	2.75	3.00	3.00	2.00	4.00	1.08
14. Do you think that there is unhealthy food on the market? / 14. Czy sądzisz, że na rynku dostępne są niezdrowe produkty żywnościowe?	1.55	1.00	1.00	1.00	2.00	0.71
15. At present, are you alone when you have meals? / 15. Czy obecnie spożywasz posiłki w samotności?	2.64	3.00	3.00	2.00	3.00	0.69
TOTAL / SUMA	36.71	37.00	37.00	35.00	39.00	3.52

a Turkish study, 62.2 % of 969 medical and nursing students showed orthorectic tendencies [30]); opera (81.8 %) and symphony musicians (36.4%), ballet dancers (32.1%) [16]; and among dietary supplement users [16].

Studies on risk factors for orthorexia conducted to date attempted to estimate the prevalence of this disorder considering sociodemographic data, but the result obtained presented further discrepancies. There is no consensus on the prevalence of this phenomenon in relation to gender of the subject presented: while some reports link orthorexia to the female gender [10, 14], others point to the male gender [1, 15, 16] and others to the lack of gender differences in a predisposition to orthorectic behavior [2, 13, 28]. The present study also does not confirm an association between the gender and the frequency of orthorexia diagnosis, regardless of the cut-off point used in the ORTO-15 test.

A possible link between age and orthorectic disorders has also been of interest to researchers. In the literature, one can find a relatively large number of studies dedicated especially to young people, including students [1, 2, 3, 6, 7, 10, 13, 14, 15, 16, 20, 24, 25]. Age, especially younger age [16], as a factor associated with orthorectic tendencies, is confirmed, for example, by a Hungarian study on a group of 810 participants, where a modified, 11-item version of the ORTO-15 test (ORTO-11-Hu) was used [28], but other studies deny a link between age and orthorexia [4, 27]. In this aspect, a study of 743 Polish and 519 Lebanese adults found no significant correlation between age and orthorexia [4]. This factor was also analyzed in the current study, where the criterion of young age (less than 25 years old, mostly characterizing university age) did not reach statistical significance as a predisposing element for orthorexia. The considerations of potential risk factors for this disorder logically also attempt to link the BMI (Body Mass Index) of the subjects as a reflection of problems with maintaining an appropriate body weight and thus seeking and following an appropriate, sometimes restrictive diet [1, 4, 10, 14, 16, 17, 18, 27]. These are examples of further discrepancies: while some reports confirm a significant association of presented overweight [14, 18] or underweight [8] with orthorexia, reports demonstrating the absence of such a relationship can also be found [16, 27]. For example, a multicenter study involving several hundred Italian, Polish and Spanish students found that a higher body mass index was significantly associated with the risk of orthorexia [14]. A study among Italian students at the University of Pisa confirmed that orthorexia symptoms were more frequently observed among those with a low body mass index compared to those with a normal or high body mass index [8]. The present study highlighted the association of diagnosed orthorexia with a BMI considered only in terms of normal and non-normal (underweight and overweight or obese individuals), where a significant relationship was found between these factors at the cut-off point of 35 points ($p = 0.02$) in the ORTO-15 test used (no significant relationship was found at the cut-off point for

< 40 points). Attention must be given to the fact that it was the respondents with a BMI value within the normal range who had lower mean scores in the ORTO-15 test compared to those with a BMI value outside the normal range (36.50 vs. 37.07 points).

An interesting aspect of many ongoing studies seems to be the attention paid to the educational background of those predisposed to orthorectic disorders, where medical professions, both in the category of professional practice and stage of study, are considered an important risk factor [1, 6, 13, 15, 16, 20, 24]. The current study presented here does not confirm the association between both having such an educational profile and working in a medical profession and studying such fields of study (i.e. nursing, paramedicine, dietetics, midwifery, medicine) and a higher prevalence of orthorexia compared to in the general population. The lack of significant differences between an educational profile in the medical/non-medical categories is also confirmed by another study analyzing 77 health facilities, suggesting a link between orthorexia and specific personality predispositions rather than an educational type [5]. Many studies focus on the prevalence of orthorexia in groups presenting a specific type of education, particularly often among dietitians and students in this field, where the risk of acquiring orthorectic tendencies is highlighted [1, 6, 13, 15, 16, 20]. As an example, a Turkish study conducted among 1,429 respondents who were dietetic students and dietitians, using, among others, the modified ORTO-11 questionnaire, showed a higher prevalence of orthorexia among students (63.80 %) than among those already working in the profession (52.90 %), but the percentages were high in each group. The authors of the study further indicated that successful completion of the studies reduced the odds of orthorexia [6]. In a systematic review developed on orthorexia and other eating disorders, nursing students were mentioned, where it was noted that they were 84.50 % more likely to develop an eating disorder and 45.30 % more likely to develop orthorexia compared to other identified groups of adolescents [24]. The present study, regardless of the cut-off point used, indicated the highest percentage of those characterized by orthorectic disorders among dietetics (90 % for a < 40-point threshold and 30 % for a < 35-point threshold) and nursing (74.10 % and 23.30 %, respectively).

Recent reports suggest a possible link between orthorexia and the cases of people with gastroenterological conditions, although the lack of research in this area is highlighted [11, 26], attention is also given to other chronic diseases requiring dietary adherence or modification, including obesity, polycystic ovary syndrome and diabetes [17]. The current study is one of the few to also highlight the importance of having a chronic disease and selected somatic complaints for the prevalence of orthorectic disorders, where a significant relationship ($p = 0.03$) for the association of orthorexia with a chronic condition in the respondents (cut-off point < 40 in the ORTO-15 test) and again a significant relationship ($p = 0.01$) for the somatic complaints experienced by the respondents (including gastrointestinal and other complaints) and the simultaneous

display of orthorectic tendencies (cut-off point < 35 in the ORTO-15 test). Few publications present research findings on risk factors for orthorexia suggesting the need to extend them further. An example of the area for which research should be extended is the concept of cultural relevance in the prevalence of orthorexia, including in the so-called Western and Eastern cultures with different eating patterns, which would be motivated by the possibility of providing culturally appropriate psychological treatment [4, 14, 18].

While there is no doubt that the disorder known as *orthorexia nervosa* is a growing phenomenon, there is currently no consensus in the scientific community regarding its clinical classification, an unambiguous diagnosis (including the use of a single, reliable screening tool) and unanimity regarding the most presented risk factors, which poses a challenge for further research in this area.

Conclusions

On the basis of the study, the difficulty of confirming or rejecting the formulated hypotheses was confirmed.

1. H1 and H2 hypothesis were rejected. Thus, the level of education, studying a medical degree or having a medical degree does not significantly affect the risk of orthorexia.
2. H3 hypothesis was rejected. There is no significant effect of the respondents' age and gender on the risk of orthorexia regardless of the cut-off point used.
3. Hypothesis H4 was partially confirmed. A significant relationship was observed between a BMI value indicating normal weight and the risk of orthorexia, but only for a cut-off point of < 35 points.
4. Hypothesis H5 was partially confirmed. A significant effect of the presence of chronic diseases (for a cut-off point of < 40 points) and the presence of complaints (for a cut-off point of < 35 points) on the risk of orthorexia was observed.

The confirmation of a statistically significant relationship for only one of the cut-off points used between the presence of orthorexia and the above-mentioned factors indicates that further research is needed to definitively confirm or reject the presence of a correlation.

Postulates

The results obtained, as in the case of the studies of other authors, indicate an imperfection of the ORTO-15 test resulting in the overdiagnosis of *orthorexia nervosa*.

The research suggests the need for further studies to improve the orthorexia diagnostic tool due to the lack of unanimity among researchers regarding the versions of the test used and the cut-off points for diagnosis of this disorder. This results in a lack of ability to properly compare data, as well as to reliably assess the true prevalence of

orthorexia in the population and the factors having a significant impact on its occurrence.

Limitations of the study

The failure to obtain optimally similar numbers of comparison groups of study subjects in terms of age (academic and older), gender, education (medical/non-medical), having or not having chronic diseases, experiencing or not experiencing somatic complaints and a BMI (normal/non-normal) might have made it partially difficult to confirm/exclude the potential impact of these factors on the occurrence of orthorectic disorders.

References

- [1] Abdullah M.A., Al Hourani H.M., Alkhatib B.: Prevalence of orthorexia nervosa among nutrition students and nutritionists: Pilot study. *Clin. Nutr. ESPEN*, 2020, 40, 144-148.
- [2] Aiello P., Toti E., Villaño D., Raguzzini A., Peluso I.: Overlap of orthorexia, eating attitude and psychological distress in some Italian and Spanish university students. *World J. Psychiatry*, 2022, 12(10), 1298-1312..
- [3] Brytek-Matera A., Obeid S., Donini L.M., Rogoza M., Marchlewska M., Plichta M., Jeżewska-Zychowicz M., Hallit S., Rogoza R.: Psychometric properties of the ORTO-R in a community-based sample of women and men from Poland. *J. Eat. Disord*, 2023, 11, #9.
- [4] Brytek-Matera A., Sacre H., Staniszewska A., Hallit S.: The Prevalence of Orthorexia Nervosa in Polish and Lebanese Adults and Its Relationship with Sociodemographic Variables and BMI Ranges: A Cross-Cultural Perspective. *Nutrients*, 2020, 12(12), #3865.
- [5] Burke T., De Loache A., Doad S., Harrington A., Homan B., Mc Aleer E. i in.: Comparison of orthorexia in healthcare professionals vs. the general public. *J. Acad. Nutr. Diet*, 2018, 118(9), A43.
- [6] Caferoglu Z., Toklu H.: Orthorexia Nervosa in Turkish dietitians and dietetic students. *Encephale*, 2022, 48(1), 13-19.
- [7] Clifford T., Blyth C.: A pilot study comparing the prevalence of orthorexia nervosa in regular students and those in University sports teams. *Eat Weight Disord*, 2019, 24(3), 473-480.
- [8] Dell'Osso L., Carpita B., Muti D., Cremone I.M., Massimetti G., Diadema E., Gesi C., Carmassi C.: Prevalence and characteristics of orthorexia nervosa in a sample of university students in Italy. *Eat Weight Disord*, 2018, 23(1), 55-65.
- [9] Dunn T.M., Gibbs J., Whitney N., Starosta A.: Prevalence of orthorexia nervosa is less than 1 %: data from a US sample. *Eat Weight Disord*, 2017, 22(1), 185-192.
- [10] Elias M.C., Gomes D.L., Paracampo C.C.P.: Associations between Orthorexia Nervosa, Body Self-Image, Nutritional Beliefs, and Behavioral Rigidity, *Nutrients*, 2022, 14(21), #4578.
- [11] Gajdos P., Román N., Tóth-Király I., Rigó A.: Functional gastrointestinal symptoms and increased risk for orthorexia nervosa. *Eat Weight Disord*, 2022, 27(3), 1113-1121.
- [12] Gkiouras K., Grammatikopoulou M.G., Tsaliki T., Ntwali L., Nigdelis M.P., Gerontidis A., Taousani E., Tzimos C., Rogoza R., Bogdanos D.P., Donini L.M., Goulis D.G.: Orthorexia nervosa: replication and validation of the ORTO questionnaires translated into Greek in a survey of 848 Greek individuals. *Hormones (Athens)*, 2022, 21(2), 251-260.

- [13] Gortat M., Samardakiewicz M., Perzyński A.: Ortoreksja – wypaczone podejście do zdrowego odżywiania się Orthorexia nervosa – a distorted approach to healthy eating. *Psychiatr. Pol*, 2021, 55(2), 421-433.
- [14] Gramaglia C., Gambaro E., Delicato C., Marchetti M., Sarchiapone M., Ferrante D., Roncero M., Perpiñá C., Brytek-Matera A., Wojtyna E., Zeppegno P.: Orthorexia nervosa, eating patterns and personality traits: a cross-cultural comparison of Italian, Polish and Spanish university students. *BMC Psychiatry*, 2019, 19(1), 235.
- [15] Gubiec E., Stetkiewicz- Lewandowicz E., Rasmus P., Sobów T.: Problem ortoreksji w grupie studentów kierunku dietetyka. *Med Og Nauk Zdr*, 2015, 21(1), 95-100.
- [16] Hymnik J., Zasada I., Jelonek I., Wilczyński K.M., Janas- Kozik M.: Ortoreksja - aktualne ujęcie problemu. *Przegląd badań, Psychiatria Polska, Komitet Redakcyjno Wydawniczy PTP*, 2021, 55(2), 405-420.
- [17] Kalra S., Kapoor N., Jacob J.: Orthorexia nervosa. *J Pak Med Assoc*, 2020, 70(7), 1282-1284.
- [18] Łucka I., Janikowska-Hołoweńko D., Domarecki P., Plenikowska-Ślusarz T., Domarecka M.: Orthorexia nervosa - a separate clinical entity, a part of eating disorder spectrum or another manifestation of obsessive-compulsive disorder? *Psychiatr Pol*, 2019, 53(2), 371-382.
- [19] Mitrofanova E., Pummell E., Martinelli L., Petróczy A.: Does ORTO-15 produce valid data for 'Orthorexia Nervosa'? A mixed-method examination of participants' interpretations of the fifteen test items. *Eat Weight Disord*, 2021, 26(3), 897-909.
- [20] Niedzielski A., Kaźmierczak-Wojtaś N.: Prevalence of Orthorexia Nervosa and Its Diagnostic Tools-A Literature Review. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18 (10), #5488.
- [21] Paludo A.C., Magatão M., Martins H.R.F., Martins M.V.S., Kumstát M.: Prevalence of Risk for Orthorexia in Athletes Using the ORTO-15 Questionnaire: A Systematic Mini-Review. *Front Psychol*, 2022, 13, #856185.
- [22] Parra-Fernandez M.L., Rodríguez-Cano T., Onieva-Zafra M.D., Perez-Haro M.J., Casero-Alonso V., Muñoz Camargo J.C., Notario-Pacheco B.: Adaptation and validation of the Spanish version of the ORTO-15 questionnaire for the diagnosis of orthorexia nervosa. *PLoS One*, 2018, 13(1), #0190722.
- [23] Rogoza R., Donini L.M.: Introducing ORTO-R: a revision of ORTO-15. *Eat Weight Disord*, 2021, 26, 887-895.
- [24] Skella P., Chelmi M.E., Panagouli E., Garoufi A., Psaltopoulou T., Mastorakos G., Sergentanis T.N., Tsitsika A.: Orthorexia and Eating Disorders in Adolescents and Young Adults: A Systematic Review. *Children (Basel)*, 2022, 9(4), 514.
- [25] Stochel M., Janas-Kozik M., Zejda J., Hymnik J., Jelonek I., Siwiec A.: Walidacja kwestionariusza ORTO-15 w grupie młodzieży miejskiej w wieku 15–21 lat. *Psychiatr. Pol*, 2015, 49(1), 119-134.
- [26] Tuck C.J., Sultan N., Tonkovic M., Biesiekiński J.R.: Orthorexia nervosa is a concern in gastroenterology: A scoping review. *Neurogastroenterol Motil*, 2022, 34(8), #14427.
- [27] Turner P.G., Lefevre C.E.: Instagram use is linked to increased symptoms of orthorexia nervosa. *Eat Weight Disord*, 2017, 22 (2), 277-284.
- [28] Varga M., Thege B.K., Dukay-Szabó S., Túry F., van Furth E.F.: When eating healthy is not healthy: orthorexia nervosa and its measurement with the ORTO-15 in Hungary. *BMC Psychiatry*, 2014, 14, #59.
- [29] Voglino G., Parente E., Bert F., Lo Moro G., Corradi A., Lapicciarella M., Gualano M.R., Siliquini R.: Orthorexia Nervosa, a challenging evaluation: analysis of a sample of customers from organic food stores. *Psychol Health Med*, 2021, 26(4), 478-486.
- [30] Yılmazel G.: Orthorexia tendency and social media addiction among candidate doctors and nurses. *Perspect Psychiatr Care*, 2021, 57(4), 1846-1852.


- [31] A healthy lifestyle - WHO recommendations. [on line]. WHO. Dostęp.w Internecie [01.07.2023]: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations>.

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ORAZ WYBRANE CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU ORTOREKSJI Z WYKORZYSTANIEM TESTU ORTO-15

Streszczenie

Wprowadzenie: Zjawisko ortoreksji uznawane jest za dość powszechne, jednak częstość jego występowania jest trudna do oszacowania. Celem pracy była próba oszacowania częstości występowania ortoreksji oraz wyodrębnienia potencjalnych czynników ryzyka rozwoju tego zjawiska. Badanie ankietowe przeprowadzono w kwietniu 2023 roku wśród studentów Wydziału Nauk o Zdrowiu Akademii Nauk Stosowanych w Nowym Sączu oraz za pośrednictwem mediów społecznościowych. W przebiegu badania wykorzystano autorski kwestionariusz ankiety oraz standaryzowany kwestionariusz ORTO-15. Przyjęto dwa punkty odcięcia < 35 i < 40 pkt. Analizę wyników przeprowadzono z wykorzystaniem testu U Manna-Whitneya, testu niezależności chi-kwadrat oraz alfy-Cronbacha.

Wyniki i wnioski: Częstość występowania tendencji ortorektycznych dla punktu odcięcia wynoszącego <40 pkt została oszacowana na poziomie 77.78 %. Obniżenie punktu odcięcia do < 35 pkt skutkowało spadkiem częstości występowania zjawiska w badanej grupie do 24.69 %. Dla punktu odcięcia wynoszącego < 40 pkt zależność istotną statystycznie otrzymano pomiędzy występowaniem ortoreksji a występowaniem chorób przewlekłych. Analiza przeprowadzona na poziomie punktu odcięcia < 35 pkt wykazała zależność statystycznie istotną pomiędzy występowaniem ortoreksji a wartością BMI oraz występowaniem dolegliwości chorobowych. Pozostałe czynniki nie różniły się istotnie dla żadnego z założonych punktów odcięcia. Bazując na uzyskanych wynikach autorzy podkreślają konieczność prowadzenia dalszych badań nad wykorzystaniem i stworzeniem użytecznej adaptacji narzędzia ORTO-15 w określaniu częstości występowania oraz czynników ryzyka rozwoju ortoreksji.

Słowa kluczowe: ortoreksja, test ORTO-15, BMI, wykształcenie medyczne, choroby przewlekłe 

ANNA GAŚSIOR, MILENA GIEMZA, WERONIKA PONIKIEWSKA,
AGNIESZKA MACHUL-ŻWIRBLA, JANUSZ MAGIERA, JACEK BUŁKA,
KRYSTYNA SKWARCZYŃSKA-MAJ, ELŻBIETA POMIETŁO

ZASTOSOWANIE SZCZEPU PROBIOTYCZNEGO *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* PL8 W PRODUKCJI WYROBÓW CZEKOLADOWYCH O POROWATYM RDZENIU

Streszczenie

Wprowadzenie. Promowany w ostatnich latach zdrowy styl życia przejawia się zwiększonym zapotrzebowaniem na produkty spożywcze o najwyższej wartości żywieniowej oraz określonych właściwościach prozdrowotnych. Z tego względu konsumenci coraz częściej sięgają po żywność funkcjonalną, która poza efektem odżywczym wykazuje udowodniony badaniami naukowymi, korzystny wpływ na jedną bądź więcej funkcji organizmu. Celem przeprowadzonych badań było opracowanie innowacyjnego produktu w postaci wyrobów czekoladowych o porowatym rdzeniu wzbogaconych w składniki funkcjonalne. W celu wyselekcjonowania szczepu probiotycznego najlepiej przystosowanego do warunków produkcyjnych drażetek czekoladowych, przeprowadzono szczegółową charakterystykę 20 bakterii z rodzajów *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* oraz *Limosilactobacillus* tj. identyfikację fenotypową i genotypową, badanie lekowrażliwości, analizę oporności na sole żółci i sok żołądkowy, test zdolności do adherencji do komórek nabłonka jelitowego, badanie aktywności antybakteryjnej. Szczepy przebadano także pod kątem przeżywalności w warunkach przemysłowych takich jak: podwyższona temperatura i wilgotność, niskie pH, obecność tlenu, dodatek prebiotyku i skład podłoża przemysłowego do hodowli. Opracowano także sposób wytwarzania drażetki czekoladowej składającej się z nagazowanego czekoladowego rdzenia zawierającego szczep probiotyczny i prebiotyk oraz z cukrowej otoczki.

Wyniki i wnioski. Wyselekcjonowano szczep *Lactiplantibacillus plantarum* PL8 i opracowano sposób jego aplikacji do drażetek czekoladowych w postaci płynnej, mikrokapsułkowanej w nośniku tłuszczowym szczerpionki. Otrzymany w ten sposób wyrób czekoladowy, zawierający probiotyk i prebiotyk (glukooligosacharyd) spełnia wymagania WHO/FAO w zakresie zawartości bakterii probiotycznych w żywności tj. liczebność bakterii $\geq 10^6$ jtk/g przez cały okres przydatności do spożycia. Opracowane drażetki czekoladowe wykazują unikalne właściwości prozdrowotne, a także atrakcyjne cechy organoleptyczne.

Mgr A. Gąsior, mgr M. Giemza, mgr inż. W. Ponikiewska, dr n. med. A. Machul-Żwirbla, Prolab Sp. z o.o. Sp. Komandytowa, ul. Daliowa 4/LU8, 30-612 Kraków; mgr inż. J. Magiera, mgr inż. J. Bułka, mgr inż. K. Skwarczyńska-Maj, mgr E. Pomietło, Maspex-GMW Sp z o.o. ul. Chopina 10, 34-100 Wadowice. Kontakt: e-mail: gasior@pro-lab.pl

Słowa kluczowe: probiotyki, prebiotyki, *Lactiplantibacillus plantarum* PL8, wyroby czekoladowe, żywność funkcjonalna

Wprowadzenie

W ostatnich latach obserwuje się nieustający wzrost zainteresowania żywnością funkcjonalną, która obok właściwości odżywczych wykazuje również działania prozdrowotne. Czynniki takie jak: starzenie się społeczeństwa, wzrost zachorowań na choroby cywilizacyjne, wysokie koszty opieki medycznej, rozwój technologii żywności, dostęp do nowych składników a także rosnąca świadomość konsumentów na temat oddziaływania pokarmu na organizm ludzki, doprowadziły do intensywnego rozwoju tej kategorii żywności.

W tradycji Dalekiego Wschodu nie ma wielkiej różnicy pomiędzy pożywieniem a lekiem, dlatego też Japończycy już w 1980 roku podjęli badania nad wpływem składników żywności na organizm człowieka, a w 1984 r. w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia Japonii pierwszy raz pojawiło się pojęcie żywności specjalnego przeznaczenia zdrowotnego (FOSHU, ang. *Foods for Specific Health Uses*) [4]. Definicja żywności funkcjonalnej, zaproponowana w 1999 r. przez europejski program badawczy FUFOSSE (ang. *Functional Food Science in Europe*), brzmi: „Żywność może być uznawana za funkcjonalną, jeżeli udowodniono jej korzystny wpływ na jedną lub kilka funkcji organizmu ponad efekt odżywczy, a jej działanie prozdrowotne powinno być udokumentowane badaniami naukowymi” [2, 7]. Pojęcie żywności funkcjonalnej obejmuje zarówno żywność specjalnego przeznaczenia żywieniowego, żywność wzbogaconą, jak również żywność powszechnego spożycia. Należy jednak pamiętać, że nie posiada ona jeszcze regulacji prawnej, natomiast żywność wzbogacona ma swoje odniesienie i uwzględnione wymagania w Rozporządzeniu (UE) nr 1925/2006.

Żywność funkcjonalna musi pozostać żywnością konwencjonalną i wykazywać korzystne oddziaływanie (m.in. pozytywnie wpływać na czynności organizmu, przyczyniać się do poprawy samopoczucia, wspomagać działanie układu pokarmowego czy regulować poziom stresu) w ilościach, które oczekuje się, że będą normalnie spożywane z dietą [15, 18]. Istnieje wiele kryteriów jej podziału i tak na rynku spożywczym znajdziemy produkty niskoenergetyczne, wysokobiałkowe, niskosodowe, energizujące, o obniżonej zawartości cholesterolu, a także wzbogacone w takie składniki bioaktywne jak: probiotyki, prebiotyki, postbiotyki, błonnik, witaminy, składniki mineralne i inne. Ze względu na przeznaczenie żywność funkcjonalna dedykowana jest osobom w podeszłym wieku, aktywnym fizycznie, niemowlętom, kobietom w ciąży, a także w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia chorób nowotworowych, chorób krążenia, osteoporozy i zwiększenia sprawności psychofizycznej [22, 24].

Żywność probiotyczna stanowiąca specyficzny rodzaj żywności funkcjonalnej zawiera w swoim składzie: *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus casei* czy *Bifidobacterium bifidum*. Produkt, aby mógł zostać nazwany probiotycznym, musi spełniać określone warunki, tj. zawarte w nim drobnoustroje muszą posiadać status GRAS (ang. *Generally Recognized As Safe*), zostać wyizolowane z prawidłowej mikrobioty człowieka, a w przypadku podania doustnego – wykazywać antagonizm do patogennych bakterii przewodu pokarmowego oraz oporność na działanie soli żółci, enzymów trawiennych i soku żołądkowego o niskim pH. Produkty probiotyczne muszą wywierać pozytywny wpływ na funkcjonowanie organizmu, a obecne w nich drobnoustroje powinny zachować żywotność w trakcie całego ich terminu przydatności do spożycia. Aktualnie obowiązująca definicja probiotyków, wprowadzona przez WHO a zatwierdzona przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Naukowe Probiotyków i Prebiotyków (ISAPP), brzmi „żywe mikroorganizmy, które podane w odpowiedniej ilości wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza” [13].

Prebiotyki, czyli składniki pokarmowe niepodlegające trawieniu w przewodzie pokarmowym, to kolejny przykład substancji bioaktywnych dodawanych do żywności funkcjonalnej. Pobudzają wzrost bakterii probiotycznych, a także zwiększają ich aktywność w jelicie grubym [16]. Prebiotyki, podobnie jak probiotyki, muszą posiadać kilka specyficznych właściwości, m.in: obniżać pH treści jelitowej, być odporne na hydrolizę i enzymy trawienne oraz nie ulegać przyswojeniu w górnym odcinku przewodu pokarmowego [10]. Dodatkowo powinny wykazywać pozytywny wpływ na motorykę przewodu pokarmowego, a także być odporne na procesy technologiczne. Przedstawicielami prebiotyków są oligosacharydy (glukooligosacharydy, fruktooligosacharydy, laktuloza) i polisacharydy (inulina, celuloza, skrobia oporna, pektyny) [30].

Połączenie probiotyków z prebiotykami stanowią synbiotyki. Spożywanie produktów synbiotycznych wspiera funkcjonowanie mikrobioty jelitowej, przyczynia się do kolonizacji jelita grubego bakteriami probiotycznymi, przyspiesza trawienie cukrów, wpływa na redukcję stanów zapalnych, a także w przypadku niektórych produktów, obniża ciśnienie krwi i poziom cholesterolu [25]. Synbiotyki zmniejszają stężenie szkodliwych metabolitów, zapobiegają biegunkom, a także zaparciom. Dodatkowo stwarzają w jelicie lepsze warunki do wytwarzania krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (np. kwasu masłowego), ułatwiają wchłanianie składników mineralnych i witamin z pożywienia, a także oddziałują pozytywnie na układ immunologiczny [8].

Produkty czekoladowe, pomimo tego, że cieszą się szczególnym zainteresowaniem, głównie wśród dzieci, nie są produktami o wysokiej wartości odżywczej. Zawierają bowiem w swoim składzie głównie cukier i tłuszcze. Sektor spożywczy poszukuje zatem nowych receptur i technologii wytwarzania wyrobów czekoladowych, które dostarczą produktów mniej kalorycznych i posiadających wartości prozdrowotne.

Celem niniejszych badań było opracowanie innowacyjnego produktu w postaci wyrobów czekoladowych o porowatym rdzeniu wzbogaconych w składniki funkcjonalne, tj. probiotyki oraz prebiotyki.

Materiały i metody badań

Szczepy bakterii

Materiał do badań stanowiło 20 szczepów bakterii kwasu mlekowego (LAB; ang. *Lactic Acid Bacteria*) z rodzajów *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* oraz *Limosilactobacillus*, które zostały wyizolowane z przewodu pokarmowego zdrowych noworodków urodzonych siłami natury, karmionych mlekiem matki, bez objawów stanu zapalnego przewodu pokarmowego. Materiał po pobraniu został opracowany w Laboratorium Mikrobiologicznym firmy Prolab Sp. z o.o. Sp. Komandytowa a wyizolowane szczepy bakterii scharakteryzowane w oparciu o metody genotypowe oraz fenotypowe, zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Żywności (FAO), Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) [13] oraz Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [12].

Identyfikacja fenotypowa i genotypowa

Identyfikację fenotypową przeprowadzono za pomocą testu API 50 CH firmy bioMérieux (Francja), który jest wystandaryzowanym zestawem do identyfikacji gatunków bakterii z rodzajów: *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus*, a także pokrewnych. Składa się z 50 studzienek reakcyjnych, zawierających liofilizowane substraty (m.in. cukry: D-glukozę, D-fruktozę, D-mannozę; glukonian potasu; cytrynian żelaza itd.). Analizy przeprowadzono w oparciu o instrukcję producenta, a wyniki odczytano za pomocą oprogramowania apiweb™ (bioMérieux, Francja).

Ponadto szczepy bakterii (n = 20) zostały poddane identyfikacji z wykorzystaniem metod genotypowych: PCR (ang. *Polymerase Chain Reaction*) [32]. Izolację genomowego DNA przeprowadzono zgodnie z instrukcją producenta załączoną do zestawu DNA GeneMATRIX Basic DNA Purification Kit (EURx, Polska). W przeprowadzonych reakcjach PCR wykorzystano sekwencje starterów umieszczone w Tabeli 1 oraz warunki opisane w literaturze [8,33].

Amplikony DNA uzyskane w reakcji PCR rozdzielono za pomocą elektroforezy agarozowej w obecności kontroli dodatnich, które stanowiły materiały genetyczne szczepów wzorcowych: *L.plantarum* ATCC 8014, *L.rhamnosus* ATCC 53103, *L.fermentum* ATCC 14931 oraz markera wielkości DNA. Wyniki wizualizowano za pomocą transiluminatora UV Gel Doc XR+ (Bio-Rad, USA)..

Tabela 1. Sekwencje starterów zastosowanych do identyfikacji szczepów bakterii kwasu mlekowego
 Table 1. Sequences of primers used to identify lactic acid bacteria strains

Gatunek / Species	Startery / Primers	Sekwencja 5'-3' / Sequence 5'-3'
<i>L.plantarum</i>	Lfpr	GCCGCCTAAGGTGGGACAGAT
	PlanII	TTACCTAACGGTAAATGCGA
<i>L.fermentum</i>	Lfpr	GCCGCCTAAGGTGGGACAGAT
	FermlI	CTGATCGTAGATCAGTCAAG
<i>L.rhamnosus</i>	RrI	CAGACTGAAAGTCTGACGG
	RhaII	GCGATGCGAATTCTATTATT
<i>L.paracasei</i>	Lpar-4	GGCCAGCTATGTATTCACTGA
	LU-5	CTAGCGGGTGCGACTTTGT

Lekowrażliwość

Bezpieczeństwo 20 analizowanych szczepów bakterii kwasu mlekowego potwierdzono w badaniach lekowrażliwości na wybrane antybiotyki metodą dyfuzyjno-krążkową Kirby-Bauera [1]. Zgodnie z tą procedurą hodowle bakterii z rodzajów *Lactiplantibacillus*, *Limosilactobacillus*, *Lacticaseibacillus* doprowadzano do gęstości 0,5 w skali MacFarlanda, a następnie zanurzano jałową wymazówkę w 10 ml inokulum i rozprowadzano na powierzchni stałej pożywki MRS Agar (Oxoid, UK). Na tak przygotowanym podłożu umieszczono krążki nasycone odpowiednim antybiotykiem, o określonym stężeniu: penicylina (1 µg), ciprofloksacyna (5 µg), doksycyklina (30 µg), oksacylina (1 µg), trimetoprim/sulfametoksazol (25 µg), erytromycyna (15 µg), ampicylina (2 µg), klindamycyna (2 µg), wankomycyna (30 µg), gentamycyna (30 µg) oraz metronidazol (5 µg) (Oxoid, UK). Płytki inkubowano następnie w warunkach beztlenowych z wykorzystaniem systemu GasPak (BD BBL™, USA) przez 48 h, w temp. 37 °C. Po zakończeniu inkubacji dokonywano pomiaru stref zahamowanego wzrostu badanego szczepu bakterii wokół krążka z antybiotykiem (w mm), które porównano z wartościami otrzymanymi dla szczepów wzorcowych (*Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014, *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 14931, *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Lacticaseibacillus paracasei* BAA-52).

Oporność na sok żołądkowy

Stopień przeżywalności 20 szczepów w warunkach symulujących środowisko żołądka oznaczono posługując się metodą Clarka [33], którą zmodyfikowano w ten sposób, iż zamiast stężonego kwasu solnego zastosowano modelowy sok żołądkowy składający się ze sterylnego roztworu 0,5 % NaCl z dodatkiem lizozymu (1 g/l) i pepsyny (0,3 g/l) doprowadzony do pH 2,5 przy użyciu 5 M HCl. Modelowy sok żołądkowy rozlewano po 1 ml do jałowych probówek, a następnie do każdej z nich kolejno doda-

wano po 100 μl 24-godzinnej hodowli LAB o gęstości 10^7 jednostek tworzących kolonię (jtk/cm^3). Mieszaninę inkubowano przez 30 min. w 37°C w warunkach ściśle beztlenowych z wykorzystaniem systemu GasPak (BD BBLTM, USA). Po upływie wyznaczonego czasu próbkę starannie mieszano, wykonywano szereg dziesięciokrotnych rozcieńczeń i posiew powierzchniowy na agar MRS (Oxoid, UK) w celu określenia liczby żywych komórek LAB. Wyniki wyrażono jako $\log \text{jtk}/\text{cm}^3$.

Oporność na sole żółci

Oporność 20 szczepów bakterii na sole żółci oznaczono w oparciu o metodę Dashkevicza i Feighnera [9]. Polegała ona na dodaniu do agaru MRS (Oxoid, UK) barwnika: purpury bromokrezolowej (POCH, Polska) w ilości $0,17 \text{ g}/\text{dm}^3$ oraz soli żółci (OXGAL, BD) w pięciu kolejnych stężeniach: 1; 2; 5; 10; 20 g/dm^3 . Na tak przygotowane stałe podłoża posiewano metodą redukcyjną po 100 μl hodowli LAB, które następnie inkubowano przez 48 godzin w warunkach beztlenowych z wykorzystaniem GasPak (BD BBLTM, USA). Po zakończonej inkubacji kolonie szczepów opornych na dane stężenie soli żółci nabierały koloru jasnożółtego, jak również podłoże wzrostowe zmieniało swoje zabarwienie z fioletowego na żółte. Intensywność wzrostu badanego szczepu i zabarwienia podłoża na kolor żółty oceniono w skali półilościowej (od „-” do „+++”), gdzie: - brak zmiany zabarwienia podłoża, + słaba zmiana zabarwienia podłoża, ++ średnia zmiana zabarwienia podłoża, +++ silna zmiana zabarwienia podłoża.

Zdolność adherencji do komórek nabłonka jelitowego

W celu sprawdzenia czy badane szczepy ($n = 20$) posiadają zdolność adherencji do komórek nabłonka jelitowego wykorzystano ludzką linię tkankową Caco-2. Hodowlę tkanki prowadzono przez 15 dni w atmosferze zawierającej 10 % CO_2 , w temperaturze 37°C oraz w podłożu hodowlanym DMEM (Gibco, USA) z dodatkiem 10 % surowicy wołowej (FBS; Sigma-Aldrich, USA). Płyny hodowlane wymieniano regularnie, a po osiągnięciu zlewnego wzrostu czyli tzw. „monolayer”, komórki pasażowano stosując 0,25-procentową trypsynę (Sigma-Aldrich, USA), a następnie przesiewano je na płytki 24-dółkowe doprowadzając do gęstości 5×10^5 komórek/dółek. Hodowlę tkankową linii Caco-2 prowadzono dalej na powierzchni jałowych szkiełek podstawowych umieszczonych na dnie 24-dółkowych płytek przez kolejne 3 dni do osiągnięcia na ich powierzchni zlewnego wzrostu. Następnie do komórek dodawano po 100 μl zawiesin szczepów bakterii uprzednio hodowanych przez 24 godziny w 10 ml płynnego podłoża MRS Broth (Oxoid, UK). Zawartość dołków hodowlanych uzupełniano 900 μl świeżego podłoża DMEM (Sigma-Aldrich, USA). Końcowa gęstość populacji bakterii wynosiła około $1 \times 10^8 \text{ jtk}/\text{cm}^3$. Następnie komórki linii tkankowej Caco-2 wraz z badanymi szczepami inkubowano w temp. 37°C w atmosferze o zwiększonej wilgotności i przy 10 % zawartości CO_2 przez okres 2 godzin. Po tym czasie

zawartość dołków przepłukiwano PBS (Sigma-Aldrich, USA) w celu usunięcia niezaadherowanych bakterii i całość utrwalano 3,7 % paraformaldehydem (Sigma-Aldrich, USA). Szkiełka płukano PBS i przeprowadzono ich barwienie metodą Grama. Otrzymane w ten sposób preparaty były oceniane w mikroskopie świetlnym (Olympus BX51) pod powiększeniem 1000x. Komórki badanych szczepów, które zaadherowały do linii tkankowej były zliczane w 5 polach widzenia preparatu, a następnie wyliczano wynik średni, któremu przyporządkowano odpowiedni stopień adherencji zgodnie z zakresem podanym w literaturze [31].

Aktywność antybakteryjna

Antagonistyczne działanie 20 badanych szczepów wobec bakteryjnych czynników etiologicznych próchnicy oraz biegunek badano za pomocą półilościowej metody słupkowej [28]. W tym celu szczepy posiewano na stałe podłoża MRS Agar (Oxoid, UK). Hodowle prowadzono przez 48 godzin w temp. 37 °C w warunkach ściśle beztlenowych z wykorzystaniem GasPak (BD BBL™, USA). Po uzyskaniu wzrostu wycinano w podłożu MRS Agar słupki o średnicy 9 mm, które następnie umieszczano na powierzchni podłoży stałych, na które wcześniej naniesiono zawiesiny szczepów wzorcowych (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Streptococcus mutans* PCM 2502) o gęstości 0,5 w skali McFarlanda. Następnie płytki pozostawiano na cztery godziny w lodówce w temp. 4 °C, a po upływie tego czasu dalej inkubowano je w temperaturze 37 °C, w warunkach tlenowych przez 18 godzin dla wszystkich bakterii tlenowych, z wyjątkiem szczepu wzorcowego *Campylobacter jejuni*, który inkubowano w temperaturze 42 °C w warunkach mikroaerofilnych przez 72 godziny. Po inkubacji mierzono średnice stref zahamowania wzrostu szczepów wskaźnikowych podając wynik w mm.

Przystosowanie do warunków technologicznych

Pięć probiotycznych szczepów bakterii (65A, 124B (PL8), 75B, 113B, 9B) wyselekcjonowanych w pierwszym etapie badań na podstawie wybranych właściwości (m.in. najwyższej aktywności antybakteryjnej czy zdolności do adherencji) poddano analizie przystosowania do warunków technologicznych produkcji drażetek czekoladowych. W tym celu porównano ich wzrost na podłożach produkcyjnych względem wzrostu na standardowym podłożu laboratoryjnym dedykowanym dla bakterii kwasu mlekowego tj. MRS Broth (Oxoid, UK) jako podłożu kontrolnym. Zastosowano warunki hodowli odzwierciedlające parametry stosowane w wielu procesach przemysłowych przy produkcji żywności tj. temperaturę 45 °C, wilgotność do 100 %, pH 5.1, warunki tlenowe. Szczepy zawieszano w następujących płynnych podłożach wzrostowych: podłożu kontrolnym (MRS Broth, Oxoid, UK), podłożu przemysłowym (skład: ekstrakt drożdżowy, bezwodny octan sodu, cytrynian sodu, siarczan magnezu, chlorek

manganu, siarczan amonu, glukoza), wzbogaconym dodatkowo w kazeinę (10 %), podłożu przemysłowym z glicyną i treoniną (10 %), podłożu przemysłowym z lizyną (10 %), podłożu przemysłowym z peptonem roślinnym (10 %). W tym celu pobierano jedno oczko ezy 24-godzinnej hodowli szczepu bakterii na podłożu stałym (MRS Agar, Oxoid, UK) i dodawano do 10 ml danego płynnego podłoża wzrostowego. Hodowlę prowadzono przez 48 godzin w warunkach wymienionych powyżej. Liczebność bakterii sprawdzano za pomocą metody rozcieńczeń dziesięciokrotnych w następujących punktach czasowych: na początku hodowli (0h) oraz po upływie 12, 24, 36 oraz 48 godzin. Liczbę kolonii bakterii wyrosłych na podłożach stałych zliczano, a wyniki podawano w jednostkach tworzących kolonie w przeliczeniu na 1 ml (jtk/cm³).

Ustalenie optymalnej metody przygotowania probiotyków do aplikacji do drażetek czekoladowych

Hodowle pięciu szczepów probiotycznych na wyselekcjonowanym podłożu przemysłowym z kazeiną wykorzystano następnie do opracowania kultur starterowych przeznaczonych do aplikacji do drażetek czekoladowych. W tym celu przeprowadzono ich proces liofilizacji, suszenia rozpyłowego oraz zagęszczania. Suszenie liofilizacyjne wykonano w liofilizatorze Beta1-8 LSC firmy Christ. Zawiesinę komórek przygotowano poprzez zamrożenie w temp. -80 °C. W pierwszej fazie procesu biomasę suszono w temp. -5 °C (16 h), następnie w 10 °C (24 h). Faza dosuszania trwała 8 h (temp. 20 °C). Suszenie rozpyłowe wykonano na suszarni Mobile Minor firmy GEA wyposażonej w układ do sterylizacji powietrza wlotowego za pomocą filtra hepa (GEA). Temperatura powietrza wlotowego wynosiła 180 °C a wylotowego – 80 °C. Proces suszenia trwał 60 min. Zagęszczenie hodowli szczepów probiotycznych uzyskano przez odwirowanie (wirówka Eppendorf Centrifuge 5920R) 10 dm³ hodowli (temperatura 4 °C, 20 minut, 3 500 rpm), usunięcie nadsącza i zawieszenie pozostałego osadu bakterii w 1 l tłuszczu kakaowego. Otrzymane w ten sposób kultury starterowe wysiano z wykorzystaniem metody rozcieńczeń dziesięciokrotnych na podłoża hodowlane (MRS Agar, Oxoid, UK) w celu określenia liczby komórek bakterii (jtk/cm³ lub g), a następnie dodano do czekolady, żeby dokonać wyboru najkorzystniejszego wariantu. Czekoladę z probiotykami poddano ocenie organoleptycznej. Posłużono się 5-punktową skalą (Tabela 2), w której weryfikowano barwę, zapach, smak i konsystencję. Przyjęto następujące współczynniki ważkości: barwa – 0,20, zapach – 0,20, smak – 0,35, konsystencja – 0,25. Do przeprowadzenia oceny organoleptycznej wykorzystano normę PN-A-88032:1998.

Tabela 2. Tabela do skali oceny organoleptycznej
Table 2. Table for the organoleptic evaluation scale

Cecha / Characteristic	Wyniki oceny / Evaluation	Współczynnik ważkości / Weight factor	Wynik oceny przy uwzględnieniu współczynnika ważkości / Evaluation result taking into account the weight factor
Barwa / Color	1 ÷ 5	0,20	Wynik oceny x współczynnik ważkości / Results x weighting factor
Zapach / Odor	1 ÷ 5	0,20	
Konsystencja / Consistency	1 ÷ 5	0,25	
Smak / Taste	1 ÷ 5	0,35	

Objaśnienia / Explanatory notes:

Liczba punktów: 5 – bardzo dobry, produkt idealny, typowy; 4 – dobry, produkt typowy z nieznacznymi odchyleniami; 3 – dostateczny, produkt z wyraźnymi odchyleniami lub nieznacznymi defektami; 2 – niedostateczny, silne defekty; 1 – zły, produkt całkowicie zmieniony

Number of points: 5-very good, ideal and typical product, 4-good, typical product with slight deviations, 3-sufficient, product with clear deviations or slight defects, 2-insufficient, product with strong defects, 1-bad, product completely changed.

Aplikacja bakterii probiotycznych do wyrobu czekoladowego

Wyselekcjonowany szczep probiotyczny *L.plantarum* 124B (PL8) o najlepszej przeżywalności w warunkach technologicznych w kolejnym kroku zaaplikowano do gotowego produktu w postaci wyrobu czekoladowego. W tym celu płynną szczepionkę wprowadzono:

- wyłącznie do otoczki drażetek,
- wyłącznie do rdzenia drażetek,
- zarówno do otoczki jak i do rdzenia drażetek.

Liczebność bakterii w poszczególnych miejscach aplikacji zbadano przez rozpuszczenie 10 g drażetek czekoladowych w 90 ml płynnego podłoża MRS Broth (Oxoid, UK), w wyniku czego uzyskano homogenną zawiesinę, którą następnie posiano metodą rozcieńczeń dziesięciokrotnych na płytki ze stałym podłożem MRS Agar (Oxoid, UK). Hodowlę płytek prowadzono w temp. 37 °C, w warunkach beztlenowych przez 48 h. Liczbę wyrosłych kolonii zliczano, a wyniki podawano w jednostkach tworzących kolonie w przeliczeniu na 1 ml (jtk/cm³).

*Wpływ prebiotyków na żywotność szczepu *L.plantarum* 124B (PL8)*

Aby utrzymać żywotność szczepu probiotycznego *L.plantarum* 124B (PL8) w drażetkach czekoladowych przez możliwie najdłuższy czas na poziomie zalecanym przez WHO/FAO (nie mniej niż 10⁶ jtk/g), przeprowadzono badania mające na celu wybór najlepszego układu prebiotyków i cukrów w czekoladzie. W tym celu, bazując na opracowanych przez producenta autorskich recepturach dla drażetek czekolado-

wych, przygotowano 6 rodzajów czekolad mlecznych z różną zawartością procentową prebiotyków w stosunku do wszystkich składników w ujęciu wagowym.

Przeanalizowano następujące warianty:

1. Czekolada mleczna inulina (13.5 %) / cukier;
2. Czekolada mleczna glukooligosacharyd (37 %) / fruktoza;
3. Czekolada mleczna glukooligosacharyd (37 %) / miód w proszku;
4. Czekolada mleczna oligofruktoza (13.5 %) / cukier;
5. Czekolada mleczna oligofruktoza (13.5 %) / fruktoza;
6. Czekolada mleczna inulina (13.5 %) / fruktoza.

Z 24-godzinnej hodowli szczepu *L. plantarum* 124B (PL8) w podłożu MRS Agar (Oxoid, UK) pobierano po 100 μ l i umieszczano na spodzie 24-dółkowych płytek. Na płynną hodowlę szczepów probiotycznych наносono 1 ml rozpuszczonej czekolady z prebiotykiem o temperaturze 45 °C. Całość dokładnie mieszano. Płytki umieszczano w temperaturze 45 °C na 72 godziny. Następnie wykonywano rozcieńczenia dziesięciokrotne w celu oznaczenia liczby komórek bakterii probiotycznych, które przeżyły w 1 ml płynnej czekolady (jtk/cm³).

Opracowanie technologii otrzymywania aerodrażetek

W celu wytworzenia wyrobu czekoladowego o porowatym rdzeniu płynną hodowlę szczepu *L. plantarum* 124B (PL8) o liczebności bakterii na poziomie $3,0 \times 10^{10}$ jtk/cm³ zadawano do czekolady mlecznej zawierającej w składzie glukooligosacharyd (37 %) i fruktozę. Całość mieszano przez 2 godziny w temperaturze 39 °C. Gotową czekoladę rozlewano na rolki i formowano z niej rdzenie dodatkowo napowietrzane gazem. W ramach badań opracowano układ formujący do wykonywania aerordzeni produktów spożywczych, zwłaszcza czekolady, a urządzenie go zawierające oraz sposób wytwarzania stały się przedmiotem zastrzeżenia patentowego nr P.443733. Na gotowe aerordzenie natryskiwano następnie syrop do osłonki i intensywnie mieszano. Rdzenie pokrywano dodatkowo osłonką kolorową oraz glazurą. Gotowe drażetki czekoladowe pakowano do trzech rodzajów opakowań: standardowego opakowania, folii barierowej (pakowanie bez powietrza), folii barierowej (pakowanie w atmosferze azotu). Następnie przechowywano je w temperaturze 16 °C. Kontrolę żywotności szczepu *L. plantarum* 124B (PL8) w drażetkach czekoladowych prowadzono raz w miesiącu przez kolejnych 9 miesięcy celem wyznaczenia ich terminu przydatności do spożycia.

Badania wykonano w trzech powtórzeniach a zmienne ilościowe zostały opisane za pomocą średniej arytmetycznej \pm odchylenie standardowe (SD).

Wyniki i dyskusja

Szczepy bakterii kwasu mlekowego zostały poddane identyfikacji do gatunku z wykorzystaniem metody fenotypowej (test biochemiczny API) oraz metody genoty-

powej (reakcji łańcuchowej polimerazy, ang. PCR, *Polymerase Chain Reaction*). Uzyskane wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Identyfikacja szczepów bakterii kwasu mlekowego

Table 3. Identification of lactic acid bacteria strains

Szczep bakterii / Bacteria strain	Metoda badawcza / Research method	
	Metoda biochemiczna (API) / Biochemical method (API)	Metoda molekularna (PCR) / Molecular method (PCR)
97B, 100B, 123B, 124B (PL8), 127B, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
87B, 109B	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
12B	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>

Zidentyfikowano 11 szczepów *Lactiplantibacillus plantarum*, 6 szczepów *Limosilactobacillus fermentum*, 2 szczepy *Lacticaseibacillus rhamnosus* oraz 1 szczep *Lacticaseibacillus paracasei*. Dla poszczególnych szczepów wyniki uzyskane z dwóch zastosowanych metod identyfikacji były tożsame.

Bakterie probiotyczne nie mogą posiadać specyficznych determinant oporności na antybiotyki przenoszonych na ruchomych elementach genetycznych, takich jak geny oporności na tetracyklinę, gdyż wówczas mogą stanowić rezerwar oporności dla potencjalnych drobnoustrojów patogennych [11]. Bezpieczeństwo analizowanych szczepów LAB potwierdzono zatem w badaniach lekowrażliwości. Uzyskane wyniki odniesiono do rezultatów otrzymanych dla szczepów wzorcowych i przedstawiono w Tabeli 4.

Wykazano, że szczepy bakterii kwasu mlekowego mają oporność typową dla rodzaju i gatunku. Nie posiadają mechanizmów oporności na antybiotyki, a więc wydaje się, że nie stanowią rezerwaru genów lekooporności w naturalnym mikrobiomie. Należy jednak zaznaczyć, że przedstawione badanie stanowi wyłącznie analizę fenotypową lekowrażliwości dwudziestu szczepów LAB. Szczep *L.plantarum* 124B (PL8) wybrany w końcowym etapie badań nad inkorporacją do rdzeni czekoladowych poddano potem, poza opisanym tutaj projektem, sekwencjonowaniu całego genomu do celów ochrony patentowej. Analiza porównawcza rezultatów tego sekwencjonowania wobec wzorcowego szczepu *L.plantarum* ATCC 8014 nie wykazała genów oporności na antybiotyki innych niż te charakterystyczne dla gatunku *L.plantarum*, jak i nie wykazała obecności ruchomych elementów genetycznych zawierających geny kodujące oporność na antybiotyki (wyniki nieopublikowane).

Tabela 4. Oporność na antybiotyki szczepów bakterii kwasu mlekowego

Table 4. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria strains

Antybiotyk [stężenie] / Antibiotic [concentration]	Średnica strefy zahamowania wzrostu [mm] / Diameter inhibition zone [mm]			
	6 ÷ 16	17 ÷ 27	28 ÷ 38	> 39
Penicylina / Penicillin [1 µg]	ATCC 14931, 123B, 75B	ATCC 8014, ATCC 53103, 97B, 100B, 124B, 127B, 31B, 113B, 65A, 9B, 87B, 109B, 86A, 92A, 103A, 127A	BAA-52, 18B, 108A, 120A, 12B	-
Ciprofloksacyna / Ciprofloxacin [5 µg]	ATCC 8014, 97B, 123B, 127B, 86A, 103A, 127A, ATCC 14931	ATCC 53103, 100B, 124B, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B, 92A, 108A, 120A	87B, 109B, 12B, BAA-52	-
Doksycyklinaa / Doxycycline [30 µg]	-	ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 86A, 92A, 103A, 127A	ATCC 53103, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B, 87B, 108A, 120A, ATCC 14931, BAA-52	109B, 12B
Oksacylina / Oxacillin [1 µg]	ATCC 53103, ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B, 87B, 109B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, 12B, BAA-52	-	-	-
Trimetoprim/sulfametoksazol / Trimethoprim/sulfamethoxazole [25 µg]	ATCC 53103, 127B, 87B, 109B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, 12B, BAA-52	ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 31B, 18B, 113B	65A, 75B, 30B, 109B	-

Erytromycyna / Erythromycin [15 µg]	-	ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 86A, 103A	31B, 18B, 65A, 75B, 9B, 87B, 109B, ATCC 53103, 92A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, BAA- 52	12B
Ampicylina / Ampicillin [2 µg]	ATCC 53103, 31B, 113B, 87B, 109B, 12B, BAA-52	ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 65A, 75B, 9B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931	-	-
Klindamycyna / Clindamycin [2 µg]	-	ATCC 53103, ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 31B, 113B, 65A, 75B, 9B, 92A	18B, 87B, 109B, 86A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, BAA-52	12B
Gentamycyna / Gentamicin [30 µg]	-	ATCC 53103, ATCC 8014, 100B, 123B, 124B, 127B, 18B, 65A, 75B, 9B, 87B, 109B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, 12B, BAA- 52	97B, 31B, 113B	-
Wankomycyna / Vancomycin [30 µg]	ATCC 53103, ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B, 87B, 109B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, 12B, BAA-52	-	-	-
Metronidazol / Metronidazole [5 µg]	ATCC 53103, 87B ATCC 8014, 97B, 100B, 123B, 124B, 127B, 31B, 18B, 113B, 65A, 75B, 9B, 109B, 86A, 92A, 103A, 108A, 120A, 127A, ATCC 14931, 12B, BAA-52	-	-	-

Tabela 5. Przeżywalność szczepów bakterii kwasu mlekowego w modelowym soku żołądkowym

Table 5. Evaluation of tolerance of lactic acid bacteria to simulated gastric juice

Szczep bakterii / Bacteria strain		87B	86A	92A	97B	100B	103A	108A	109B	120A	123B	124B (PL8)	127A	127B	31B	18B	113B	65A	75B	12B	9B
Liczebność bakterii [log.jtk/g] / Number of bacterial cells [log CFU/cm ³]	Czas wyjściowy (0h) / Initial time (0h)	7,30 ± 0,81	7,70 ± 1,32	7,48 ± 0,72	7,30 ± 1,00	7,00 ± 0,15	7,95 ± 1,00	7,30 ± 1,00	7,70 ± 0,71	7,26 ± 0,76	7,30 ± 1,00	7,48 ± 0,31	7,70 ± 2,00	7,70 ± 0,76	8,65 ± 1,00	8,38 ± 1,20	8,79 ± 4,45	8,61 ± 1,64	8,41 ± 1,01	8,11 ± 0,75	8,11 ± 0,58
	Po 20 min. inkubacji w modelowym soku żołądkowym o pH 2.5 / After 20 minute incubation in simulated gastric juice at pH 2.5	6,48 ± 0,20	7,00 ± 0,16	6,00 ± 0,79	5,70 ± 0,50	6,00 ± 0,31	6,60 ± 1,15	5,78 ± 0,56	6,30 ± 1,77	6,00 ± 0,77	6,00 ± 0,31	6,00 ± 0,16	6,30 ± 1,41	6,30 ± 1,38	7,78 ± 1,90	7,60 ± 0,10	8,00 ± 0,89	7,78 ± 1,15	7,60 ± 2,65	7,60 ± 1,67	7,48 ± 1,50

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviation

Kolejną cechą, którą powinny charakteryzować się szczepy bakterii probiotycznych jest duża oporność na niskie pH soku żołądkowego (Tabela 5) oraz sole żółci (Tabela 6, Rycina 1), gdyż tylko wówczas szczepy te podczas pasażu przez układ pokarmowy nie będą podlegały trawieniu i z powodzeniem będą mogły zostać zastosowane w preparatach doustnych.

Na podstawie uzyskanych wyników badań wykazano, że po 20 minutach inkubacji w modelowym soku żołądkowym o pH = 2,5 tylko 2 szczepy bakterii wykazały spadek żywotności o 2 logarytmy w stosunku do poziomu wyjściowego, a aż 18 – redukcję jedynie o 1 logarytm. Zjawisko to może wynikać z przystosowania aparatu metabolicznego bakterii do rozwoju w środowisku o niskim pH. Niektóre bakterie w środowisku o pH = 2,5 będą wykazywać obniżoną aktywność metaboliczną, ulegać osłabieniu i w miarę upływu czasu obumierać. Inne z kolei szybko przystosują się do zmiennych warunków wzrostu i będą dobrze tolerować silnie kwaśne środowisko. Może to być także wynikiem uruchamiania przez szczepy LAB odpowiedzi komórkowej związanej z syntezą białek szoku kwasowego [27,19]. Przeprowadzone badania wykazały, iż oporność bakterii na niskie pH soku żołądkowego jest cechą szczepozależną.

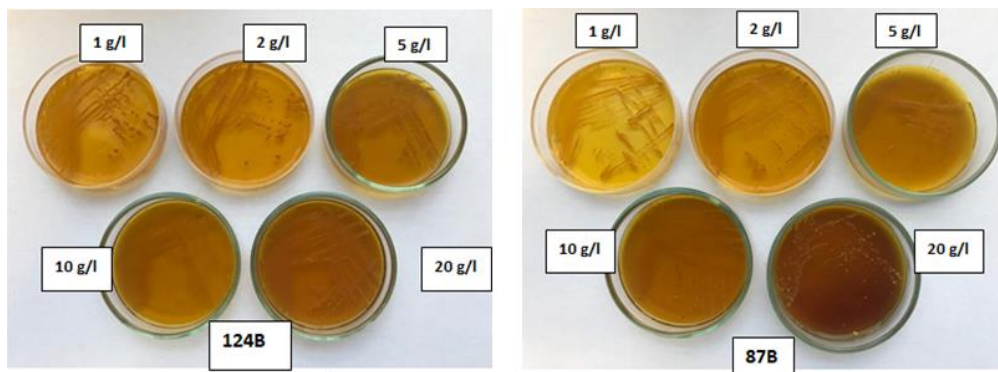
Tabela 6. Oporność szczepów bakterii kwasu mlekowego na sole żółci w stężeniach
Table 6. Bile acid resistance of lactic acid bacteria strains

Stężenie soli żółci / Bile salt concentration [g/dm ³]	Szczep bakterii / Bacteria strain					
	87B, 97B,108A, 127A, 127B, 18B	86A, 124B(PL8),11 3B, 65A, 75B, 9B	92A, 31 B, 12B	100B	103A, 109B, 123B	120A
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	++
5	+++	+++	++	+++	++	++
10	++	+++	++	+++	++	+
20	++	++	+	+++	++	+

Objaśnienia / Explanatory notes:

Legenda: - brak oporności, + słaba oporność, ++ średnia oporność, +++ silna oporność na sole żółci

Legend: - no resistance, + low resistance, ++ medium resistance, +++ high resistance



Ryc. 1. Oporność wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego na sole żółci w stężeniach: 1, 2, 5, 10, 20 g/dm³

Fig. 1. Bile acid resistance of lactic acid bacteria strains (concentrations: 1, 2, 5, 10, 20 g/ dm³)

Przeprowadzone badania wykazały, iż oporność bakterii na sole żółci jest cechą szczepozależną, podobnie jak zdolność przetrwania w niskim pH soku żołądkowego. Oznacza to, że pewne szczepy bakterii kwasu mlekowego wykazują większą zdolność do wzrostu w wysokich stężeniach kwasu żółciowego niż pozostałe. Dzięki wykonanej analizie do badań związanych z opracowaniem technologii wytwarzania gotowego produktu wybrano pięć szczepów (szczepy nr: 65A, 124B, 75B, 113B, 9B) charakteryzujących się silną bądź średnią opornością na sole żółci. Zjawisko adherencji stanowi istotny proces dla przeżycia i namnażania się bakterii probiotycznych w przewodzie pokarmowym, gdyż sam pasaż nie jest wystarczający do wywołania efektu zdrowotnego. Zdolność adherencji komórek bakterii probiotycznych do nabłonka determinuje czas ich przebywania w przewodzie pokarmowym, co stanowi ważne kryterium podczas selekcji szczepów probiotycznych [23,29]. W Tabeli 7 oraz na Rycinie 2 przedstawiono przykładowe wyniki zdolności szczepów probiotycznych do adherencji do komórek nabłonka jelitowego Caco-2.

Przedstawione wyniki badań wskazują, że 8 szczepów wykazało silne powinowactwo do ludzkiego nabłonka jelitowego, co oznacza, że posiadają one wysoką (w porównaniu do pozostałych szczepów) zdolność do kolonizacji jelita grubego. Jest to cecha niezwykle pożądana w produktach probiotycznych przyjmowanych doustnie.

Docelowo szczepy probiotyczne miały stanowić dodatek do wyrobów czekoladowych, dlatego zbadano ich działanie antagonistyczne wobec patogennych bakterii *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 oraz *Campylobacter jejuni* PCM 2627, będących czynnikami etiologicznymi zakażeń przewodu pokarmowego. W badaniach uwzględniono również czynnik etiologiczny próchnicy zębów u dzieci, jakim jest *Streptococcus mutans* PCM 2502. Wyniki przedstawiono w Tabeli 8.

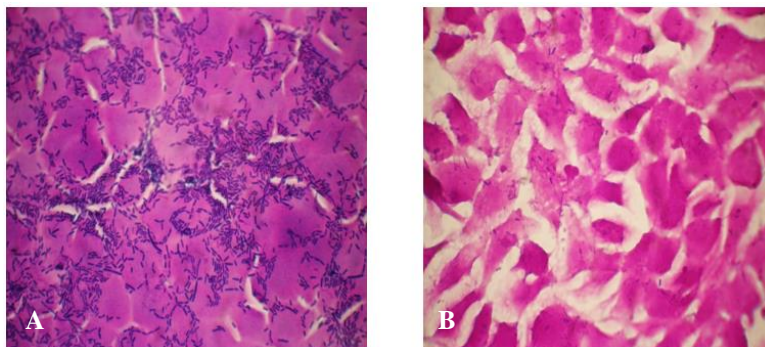
Tabela 7. Adherencja szczepów bakterii kwasu mlekowego do tkanki nabłonkowej jelita (Caco-2)
 Table 7. Adherence of lactic acid bacteria strains to intestinal epithelial tissue (Caco-2)

Szczep bakterii / Bacteria strain	Średnia liczba komórek bakterii w polu widzenia / Average number of bacterial cells in the microscopic field	Stopień adherencji / Grade of adherence
87B	0	-
65A	100 ± 4	+++
124B (PL8)	105 ± 2	+++
86A	102 ± 4	+++
127B	62 ± 4	++
109B	78 ± 2	++
18B	65 ± 4	++
75B	100 ± 10	+++
92A	14 ± 3	-
97B	68 ± 11	++
113B	105 ± 5	+++
120A	13 ± 5	-
100B	62 ± 6	++
12B	45 ± 3	+
9B	98 ± 5	+++
103A	90 ± 4	+++
123B	16 ± 3	-
108A	2 ± 1	+
31B	70 ± 4	++
127A	96 ± 2	+++

Objaśnienia / Explanatory notes:

Legenda: +++ silna adherencja (> 80 komórek bakterii w polu widzenia), ++ średnia adherencja (60÷80 komórek bakterii w polu widzenia), + słaba adherencja (40÷60 komórek bakterii w polu widzenia), - brak adherencji (< 40 komórek bakterii w polu widzenia). W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe

Legend: +++ strong adherence (> 80 bacterial cells in the field of view), ++ medium adherence (60÷80 bacterial cells in the field of view), + low adherence (40÷60 bacterial cells in the field of view), - no adherence (< 40 bacterial cells in the field of view). Table shows mean values ± standard deviation



Ryc. 2. Adherencja wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego do linii tkankowej Caco-2. A. Silna adherencja *L.plantarum* 124B (PL8). B. Słaba adherencja *L.rhamnosus* 87B. Powiększenie 100x, mikroskop świetlny BX 51 firmy Olympus.

Fig. 2. Adherence of selected lactic acid bacteria strains to the Caco-2 tissue line. A. Strong adherence of *L. plantarum* 124B (PL8). B. Low adherence of *L.rhamnosus* 87B. 100x magnification, Olympus BX 51 light microscope.

Tabela 8. Aktywność antybakteryjna szczepów bakterii kwasu mlekowego wobec czynników etiologicznych próchnicy u dzieci oraz zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego

Table 8. Antibacterial activity of the lactic acid bacteria strains against etiological factors of caries in children and gastrointestinal disorders

Szczep bakterii / Bacteria strain	Stopień zahamowania wzrostu czynników etiologicznych [mm] / Growth inhibition of etiological factors [mm]				
	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>S.enteritidis</i> ATCC 13076	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.mutans</i> PCM 2502	<i>C.jejuni</i> PCM 2627
87B	27 ± 1,71	34 ± 0,78	16 ± 1,15	17 ± 1,01	14 ± 0,87
65A	24 ± 1,31	18 ± 0,5	11 ± 0,2	23 ± 0,46	26 ± 0,75
124B (PL8)	22 ± 0,5	17 ± 0,85	14 ± 0,85	14 ± 0,72	22 ± 0,36
86A	27 ± 2,16	22 ± 0,1	11 ± 0,1	15 ± 0,25	8 ± 0,35
127B	27 ± 0,67	30 ± 1,5	12 ± 1,37	15 ± 0,82	8 ± 0,76
109B	30 ± 2,95	25 ± 1,42	14 ± 0,49	20 ± 1,05	13 ± 1,43
18B	22 ± 0,5	16 ± 0,7	9 ± 0,4	19 ± 0,69	10 ± 1,22
75B	20 ± 0,75	17 ± 1,01	11 ± 0,1	21 ± 0,5	23 ± 0,5
92A	28 ± 0,9	23 ± 1,0	11 ± 0,56	15 ± 0,67	9 ± 0,35
97B	34 ± 1,32	28 ± 0,76	18 ± 0,44	21 ± 0,5	12 ± 0,46
113B	23 ± 0,3	17 ± 1,07	12 ± 0,44	22 ± 1,04	25 ± 0,75
120A	18 ± 0,7	16 ± 1,15	10 ± 0,35	12 ± 1,1	17 ± 1,01
100B	22 ± 1,32	20 ± 0,1	15 ± 0,21	20 ± 1,25	11 ± 0,53
12B	22 ± 0,5	18 ± 0,85	11 ± 0,53	20 ± 0,29	10 ± 0,72
9B	17 ± 0,8	16 ± 1,0	11 ± 0,96	19 ± 0,5	24 ± 0,15

103A	27 ± 1,08	29 ± 0,85	12 ± 0,61	13 ± 0,26	10 ± 0,3
123B	26 ± 0,7	35 ± 2,44	15 ± 0,31	19 ± 0,85	14 ± 0,95
108A	28 ± 0,95	22 ± 1,0	12 ± 1,37	14 ± 0,46	12 ± 0,5
31B	23 ± 0,21	18 ± 1,53	12 ± 0,46	21 ± 0,97	15 ± 0,26
127A	24 ± 0,1	31 ± 1,4	11 ± 0,32	14 ± 0,52	10 ± 0,53

Objaśnienia / Explanatory notes:

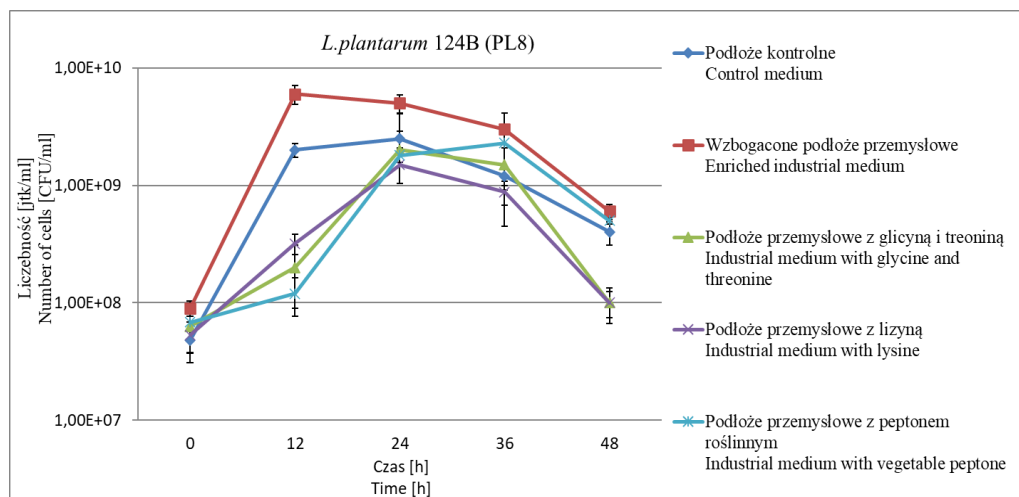
W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviation

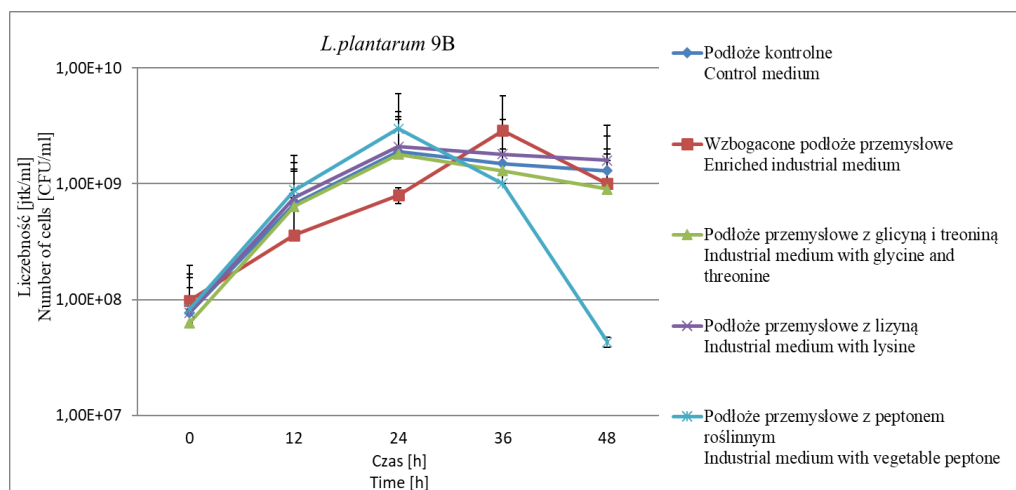
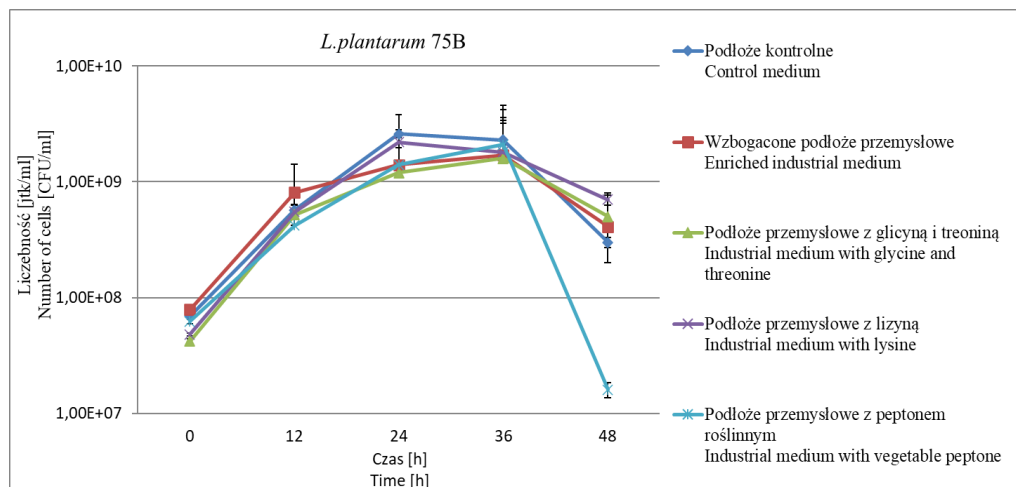
Badanie aktywności antybakteryjnej wobec wybranych czynników etiologicznych pozwoliło na wyselekcjonowanie 5 szczepów, które charakteryzowały się największymi strefami zahamowania wzrostu bakterii patogennych. Były to szczepy o numerach: 124B (PL8), 113B, 65A, 75B oraz 9B.

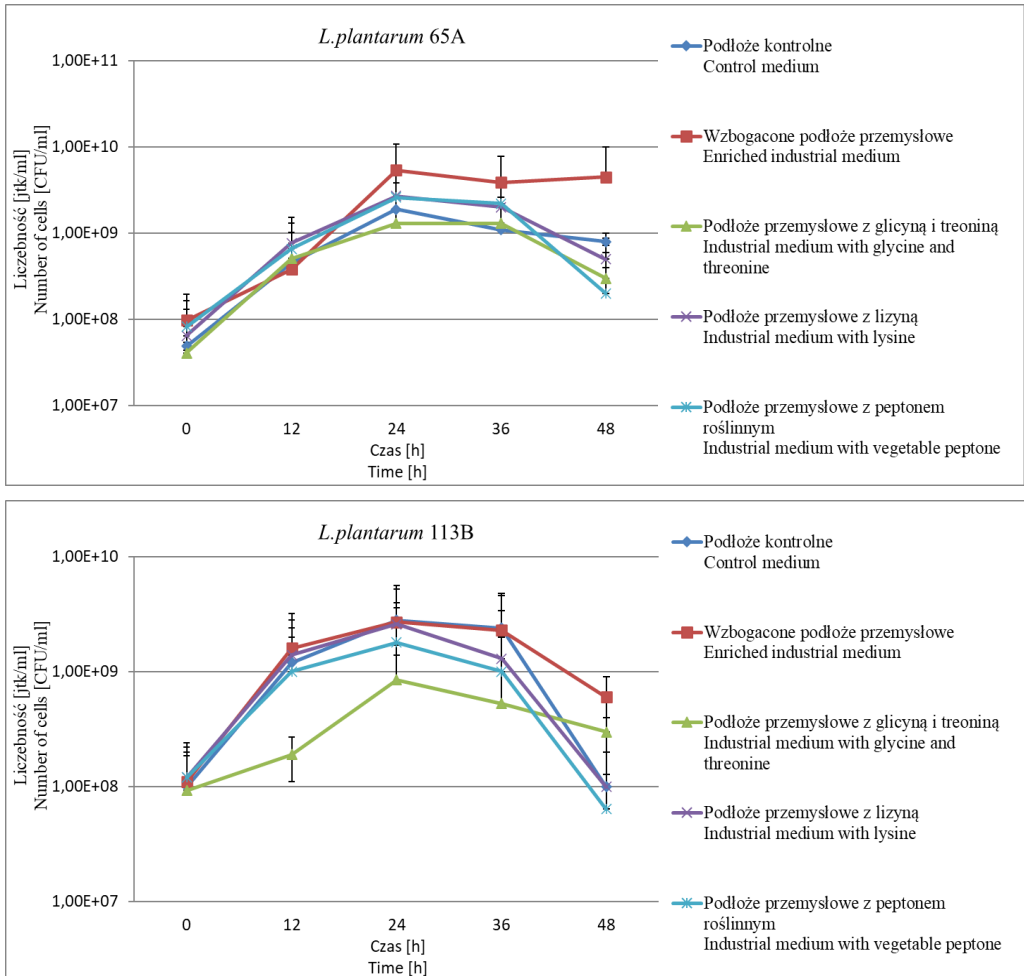
Z dwudziestu szczepów LAB wyselekcjonowano pięć (65A, 124B (PL8), 75B, 113B, 9B) charakteryzujących się: najwyższą opornością na kwas solny i sole żółci, najwyższą adhezją do tkanki nabłonkowej jelita oraz najwyższą aktywnością antybakteryjną.

Następnie sprawdzano przeżywalność wybranych szczepów bakterii w warunkach technologicznych produkcji drażetek czekoladowych (Wykres 1-5).

Porównanie wyników badań dotyczących przeżywalności szczepów bakterii probiotycznych w podłożach różniących się od siebie składem pozwoliło zauważyć, że drobnoustroje wykazywały najlepszą przeżywalność w wzbogaconym podłożu przemysłowym w stosunku do innych badanych wariantów. Podłoże to zostało zatem wybrane do dalszych testów, których celem było uzyskanie kultur starterowych.







Wykres 1-5. Przeżywalność szczepów w warunkach technologicznych produkcji draży czekoladowych (temperatura 45 °C, wilgotność do 100 %, pH: 5,1, warunki tlenowe)

Graph 1-5. Survival of probiotic bacterial strains in technological conditions during the production of chocolate dragées (temperature 45°C, humidity up to 100%, pH: 5.1, aerobic conditions)

Objaśnienia / Explanatory notes:

Na wykresach przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Graphs show mean values ± standard deviation

W kolejnym kroku opracowano trzy warianty kultur starterowych szczepów probiotycznych: liofilizat, susz oraz płynną szczepionkę, w której bakterie były mikrokapsułkowane tłuszczem. Liczebność bakterii w każdej z wyżej wymienionych przedstawiono w Tabeli 9.

Tabela 9. Liczebność bakterii probiotycznych w kulturach starterowych przeznaczonych do aplikacji do drażetek czekoladowych

Table 9. Number of probiotic bacteria in starter cultures intended for application to chocolate dragées

Szczep probiotyczny / Probiotic strain	Kultura starterowa / Starter cultures	Liczebność bakterii [log jtk/cm ³ lub g] / Number of bacterial cells [log CFU/ cm ³ or g]
<i>L.plantarum</i> 65B	Szczepionka płynna / Liquid graft	10,54 ± 1,50
	Liofilizat / Lyophilisate	11,00 ± 2,00
	Susz / Dried	10,00 ± 0,20
<i>L.plantarum</i> 124B (PL8)	Szczepionka płynna / Liquid graft	10,48 ± 1,11
	Liofilizat / Lyophilisate	11,30 ± 1,00
	Susz / Dried	10,70 ± 1,25
<i>L.plantarum</i> 75B	Szczepionka płynna / Liquid graft	10,40 ± 1,00
	Liofilizat / Lyophilisate	11,18 ± 0,71
	Susz / Dried	10,54 ± 2,4
<i>L.plantarum</i> 113B	Szczepionka płynna / Liquid graft	10,48 ± 0,27
	Liofilizat / Lyophilisate	11,00 ± 0,34
	Susz / Dried	10,70 ± 1,36
<i>L.plantarum</i> 9B	Szczepionka płynna / Liquid graft	10,30 ± 1,00
	Liofilizat / Lyophilisate	11,30 ± 0,27
	Susz / Dried	10,30 ± 0,87

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviation

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że wszystkie warianty kultur starterowych pozwoliły osiągnąć oczekiwaną liczebność bakterii probiotycznych w wyrobie czekoladowym, która oscylowała między $10^{10} \div 10^{11}$ jtk w 1 cm³/1 g. Najwyższą ży-

wotność osiągnięto dla szczepu *L.plantarum* 124B (PL8), który został wybrany do aplikacji do drażetek czekoladowych.

Kolejnym ważnym aspektem wyboru rodzaju kultury starterowej była ocena organoleptyczna czekolady z dodatkiem szczepów probiotycznych w postaci liofilizatu, suszu oraz płynnej szczepionki. W Tabeli 10 przedstawiono wyniki badań oceny organoleptycznej gotowej czekolady w skali 5-stopniowej, gdzie 5 oznaczało produkt bardzo dobry, natomiast 1 – produkt zły, całkowicie zmieniony (Tabela 2).

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że najlepszą metodą aplikacji wyselekcjonowanych szczepów probiotycznych jest płynna szczepionka na bazie tłuszczu kakaowego, w której szczepy probiotyczne są mikrokapsułkowane. Taka forma kultury starterowej pozwoliła na osiągnięcie oczekiwanej liczebności bakterii probiotycznych (jtk) w 1 ml ($10^{10} \div 10^{11}$). Dodatkowo czekolada do której dodano szczepionkę płynną, w skali oceny organoleptycznej według Tabeli 2, była idealna i typowa, natomiast zastosowanie liofilizatu bądź suszu powodowało niekorzystną zmianę konsystencji oraz smaku (proszek był wyczuwalny w czekoladzie).

Wyselekcjonowany szczep probiotyczny *L.plantarum* 124B (PL8) w formie płynnej szczepionki zaaplikowano do produktu w następujący sposób: wyłącznie do otoczki drażetek, wyłącznie do rdzenia drażetek oraz zarówno do otoczki, jak i do rdzenia drażetek (Tabela 11, Rycina 5).

Zbadano 3 warianty aplikacji szczepu probiotycznego do produktu: wyłącznie do otoczki drażetek, wyłącznie do rdzenia oraz aplikacja do otoczki i do rdzenia drażetek. Tabela 11 oraz Rycina 3.

Wykazano, że aplikacja szczepu bakterii *L.plantarum* 124B (PL8) wyłącznie do rdzenia lub do otoczki i rdzenia drażetek czekoladowych pozwala na spełnienie kryterium liczebności bakterii w żywności probiotycznej zalecanej przed WHO/FAO (10^6 jtk w 1 gramie produktu). Aplikacja probiotyków wyłącznie do otoczki skutkuje brakiem wzrostu bakterii probiotycznych, co prawdopodobnie spowodowane jest zbyt wysoką temperaturą podczas procesu otoczkowania drażetek.

W kolejnym kroku dokonano wyboru odpowiedniego prebiotyku do produkcji drażetek czekoladowych ze szczepem probiotycznym *L.plantarum* 124B (PL8). W Tabeli 12 przedstawiono wyniki żywotności bakterii w trakcie inkubacji z czekoladą zawierającą różne kombinacje prebiotyków i cukrów.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że żywotność szczepu probiotycznego *L.plantarum* 124B (PL8) najdłużej utrzymywana jest po zastosowaniu prebiotyku w postaci glukooligosacharydu (37 %) lub inuliny (13,5 %).

Tabela 10. Wyniki oceny organoleptycznej czekolady z dodatkiem szczepów probiotycznych w postaci liofilizatu, suszu oraz płynnej szczepionki z uwzględnieniem współczynników ważkości

Table 10. Organoleptic evaluation of chocolate with the addition of probiotic strains in the form of lyophilisate, dried and liquid starter cultures taking into account the weighting factors

Cecha / Characteristic	Szczep bakterii / Bacteria strain														
	65B			124B (PL8)			75B			113B			9B		
	Szczepionka / Liquid starter culture	Liofilizat / Lyophilisate	Susz / Dried	Szczepionka / Liquid starter culture	Liofilizat / Lyophilisate	Susz / Dried	Szczepionka / Liquid starter culture	Liofilizat / Lyophilisate	Susz / Dried	Szczepionka / Liquid starter culture	Liofilizat / Lyophilisate	Susz / Dried	Szczepionka / Liquid starter culture	Liofilizat / Lyophilisate	Susz / Dried
Barwa / Color	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Zapach / Odor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Konsystencja / Consistency	1	0,6	0,6	1	0,6	0,6	1	0,6	0,6	1	0,6	0,6	1	0,6	0,6
Smak / Taste	1	0,8	0,8	1	0,8	0,8	1	0,8	0,8	1	0,8	0,8	1	0,8	0,8

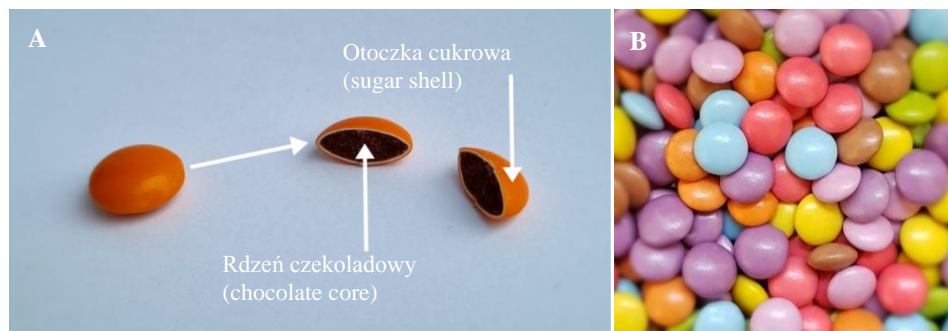
Tabela 11. Wyniki badań żywotności szczepu probiotycznego *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) w drażkach czekoladowych

Table 11. Results of the viability study of the probiotic strain *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) in chocolate dragées

Badany wariant / Examined variant	Liczebność bakterii <i>Lactobacillus plantarum</i> 124B (PL8) [jtk/g] / Number of <i>L.plantarum</i> 124B (PL8) cells [CFU/g]
Rdzeń bez bakterii probiotycznych + otoczka z bakteriami probiotycznymi / Core without probiotic bacteria + coating with probiotic bacteria	0
Rdzeń z bakteriami probiotycznymi + otoczka bez bakterii probiotycznych / Core with probiotic bacteria + coating without probiotic bacteria	$2,0 \times 10^7 \pm 0,7$
Rdzeń z bakteriami probiotycznymi + otoczka z bakteriami probiotycznymi / Core with probiotic bacteria + coating with probiotic bacteria	$1,2 \times 10^7 \pm 0,25$

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / The table shows mean values \pm standard deviation

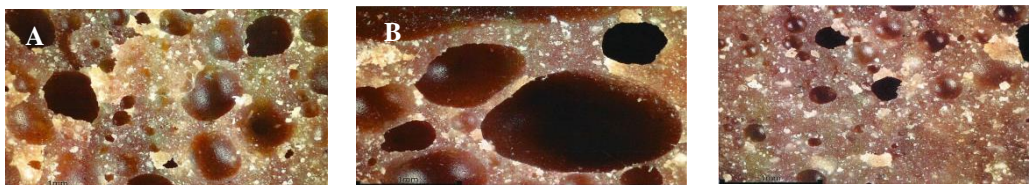


Ryc. 3. A. Miejsca aplikacji szczepu probiotycznego do drażetek czekoladowych. B. Gotowe drażetki czekoladowe

Fig. 3. A. Places of application of the probiotic strain for chocolate dragées. B. Ready-made chocolate dragées

Opracowanie wyrobu czekoladowego o porowatym rdzeniu wymagało zweryfikowania procesu technologicznego pod kątem wyboru najlepszego miejsca dozowania gazu. Sprawdzono wpływ temperatury czekolady, temperatury urządzenia formującego rdzenie (walców) oraz temperatury w tunelu chłodniczym. Oceniono wpływ różnych rodzajów gazów takich jak: azot, dwutlenek węgla, podtlenek azotu na jakość pęcherzyków znajdujących się w czekoladzie oraz ich ilość (tj. gęstość nasypową rdzeni

czekoladowych). Oceniono wpływ ciśnienia podawania gazu nie tylko na zamknięcie jak największej ilości gazu, ale również na gładkość i równomierność powierzchni rdzenia. Zauważono bowiem, że powierzchnia rdzenia, zmienia się pod wpływem zastosowanego gazu - ma ona kluczowy wpływ na jakość finalnego produktu (finalny wygląd kolorowych drażetek). Wypracowano sposób postępowania pozwalający na utrzymanie jak największej ilości dozowanego gazu w masie czekoladowej poddawanej następnie formowaniu w rdzeniu czekoladowym. Następnie przy pomocy gazu obojętnego (azotu i dwutlenku węgla) poddano napowietrzeniu różne rodzaje czekolad (zawierające w swoim składzie kakao, miążgę kakaową i dodatek błonnika) i zweryfikowano jakość oraz ilość napowietrzenia (Rycina 4 A-C).



Ryc. 4. Rozkład i wielkość pęcherzyków w rdzeniu czekoladowym przy zastosowaniu azotu (A), dwutlenku węgla (B) oraz podtlenku azotu (C).

Fig. 4. Distribution and size of bubbles in the chocolate core using nitrogen (A), carbon dioxide (B) and nitrous oxide (C).

Ważnym aspektem dla produktu zawierającego szczepki probiotyczne jest sposób jego przechowywania. Otrzymane w ramach badań drażetki czekoladowe z probiotykiem i prebiotykiem zapakowano do trzech rodzajów opakowań: standardowego opakowania, folii barierowej (pakowanie bez powietrza), folii barierowej (pakowanie w atmosferze azotu). Następnie przechowywano je w temperaturze 16 °C (temperatura magazynów do przechowywania u producenta). Przeprowadzone badania nie wykazały różnic pomiędzy zastosowanymi rodzajami opakowań gotowego produktu. We wszystkich testowanych wariantach, przez 9 miesięcy przechowywania drażetek czekoladowych w temperaturze 16 °C utrzymywana była odpowiednia dawka bakterii probiotycznych, zgodna z zaleceniami WHO/FAO (nie mniej niż 1×10^6 jtk w 1 gramie produktu). Wyniki przedstawiono w Tabeli 13.

Czekolada stanowi doskonałą matrycę dla szczepów probiotycznych dzięki niskiej aktywności wody oraz znacznej zawartości tłuszczu i związków przeciwutleniających.

Tabela 12. Wyniki badań żywotności szczepu *L.plantarum* 124B (PL8) w czekoladzie z dodatkiem różnych wariantów prebiotyków i cukrów
 Table 12. Results of viability studies of *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) strain in chocolate with the addition of various variants of prebiotics and sugars

Szczep probiotyczny / Probiotic strain	Badany wariant / Examined variant	Liczebność bakterii probiotycznych [log jtk/g] / Count of probiotic bacteria [log CFU/g]						
		0h	12h	24h	48h	72h	144h	192h
<i>L.plantarum</i> 124B (PL8)	Kontrola hodowli (podłoże hodowlane MRS Broth) / Breeding control (breeding medium MRS Broth)	7,54 ± 0,35	7,26 ± 0,23	7,45 ± 0,31	3,59 ± 0,40	< 2	< 1	< 1
	Oligofruktoza (13,5%)/fruktoza / Oligofructose (13,5%)/fructose	7,54 ± 0,35	6,30 ± 0,75	6,30 ± 0,15	5,63 ± 0,49	5,23 ± 0,25	< 1	< 1
	Inulina (13,5%)/cukier / Inulin (13,5%)/sugar	7,54 ± 0,35	7,62 ± 0,40	6,95 ± 1,00	5,90 ± 0,21	5,28 ± 0,45	4,11 ± 0,15	2,30 ± 1,01
	Inulina (13,5%)/fruktoza / Inulin (13,5%)/fructose	7,54 ± 0,35	6,60 ± 0,83	5,52 ± 0,25	5,56 ± 0,35	4,00 ± 0,15	< 1	< 1
	Oligofruktoza (13,5%)/cukier / Oligofructose (13,5%)/sugar	7,54 ± 0,35	7,77 ± 0,30	7,41 ± 0,31	5,79 ± 0,32	5,00 ± 0,16	3,00 ± 0,32	< 1
	Glukooligosacharyd (37%)/miód w proszku / Glucooligosaccharide (37%)/honeypowder	7,54 ± 0,35	7,20 ± 0,42	7,40 ± 0,25	6,08 ± 0,25	5,79 ± 0,35	3,00 ± 0,14	< 1
	Glukooligosacharyd (37%)/fruktoza / Glucooligosaccharide (37%)/fructose	7,54 ± 0,35	7,66 ± 0,35	7,18 ± 0,17	5,30 ± 0,76	5,53 ± 0,49	2,70 ± 0,20	1,48 ± 0,18

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviation

Tabela 13. Liczba komórek bakterii szczepu *L.plantarum*124B (PL8) w trakcie przechowywania produktu gotowego (drażetki czekoladowej z probiotykiem w rdzeniu i glukooligosacharydem)

Table 13. Counts of *L.plantarum* 124B (PL8) populations [log CFU/g] during storage of the final product (chocolate dragée with a probiotic in the core and glucooligosaccharide)

Miesiąc / Month	Liczebność bakterii probiotycznych [log jtk/g] / Count of probiotic bacteria [log CFU/g]					
	Standardowe opakowanie / Standard packaging		Folia barierowa / Barrier foil		Próżniowe zamykanie / Vacuum packing	
	16°C	Temp. pokojowa / Room temperature	16 °C	Temp. pokojowa / Room temperature	16 °C	Temp. pokojowa / Room temperature
0	7,11 ± 0,25	7,11 ± 0,42	7,11 ± 0,35	7,26 ± 0,83	7,11 ± 0,35	7,08 ± 0,15
1	7,23 ± 0,44	7,18 ± 0,15	7,40 ± 0,16	7,30 ± 0,21	7,18 ± 0,42	7,08 ± 0,44
2	7,04 ± 0,83	7,00 ± 0,40	7,04 ± 0,15	6,92 ± 0,15	7,04 ± 0,16	6,81 ± 0,21
3	7,00 ± 0,15	6,72 ± 0,14	7,23 ± 0,83	6,73 ± 0,83	7,15 ± 0,21	6,72 ± 0,83
4	6,79 ± 0,42	6,34 ± 0,21	6,67 ± 0,17	6,11 ± 0,17	6,83 ± 0,17	6,34 ± 0,35
5	6,71 ± 0,21	5,45 ± 0,35	6,40 ± 0,21	5,00 ± 0,42	6,32 ± 0,83	5,61 ± 0,42
6	6,61 ± 0,35	4,63 ± 0,35	6,52 ± 0,14	3,00 ± 0,40	6,66 ± 0,42	4,79 ± 0,14
7	6,53 ± 0,83	3,23 ± 0,17	6,08 ± 0,76	< 2	6,60 ± 0,21	3,30 ± 0,17
8	6,43 ± 0,16	2,48 ± 0,21	6,11 ± 0,42	< 2	6,52 ± 0,17	3,72 ± 0,21
9	6,34 ± 0,15	2,30 ± 0,42	6,11 ± 0,83	< 2	6,45 ± 0,16	2,70 ± 0,42

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviation

W literaturze znane są opisy nowatorskich połączeń probiotyków i prebiotyków z czekoladą [26]. Wykorzystuje się w nich szczepy bakterii pochodzenia zwierzęcego, roślinnego bądź środowiskowego, wyizolowane w innych krajach niż Polska [16]. Opracowane w ramach projektu drażetki czekoladowe wyróżniają się tym, że zawierają opatentowany szczep *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) wyizolowany z mikrobiomu zdrowej osoby z polskiej populacji. Taki szczep posiada wyższe powinowactwo do receptorów ludzkich niż szczepy pochodzenia roślinnego, zwierzęcego czy środowiskowego.

W opublikowanych dotychczas badaniach jako nośnik bakterii probiotycznych stosowano liofilizat koncentratu komórkowego [26]. W niniejszej pracy wykorzystano po raz pierwszy płynną szczepionkę na bazie tłuszczu kakaowego, w której szczepy probiotyczne są mikrokapsułkowane. Takie rozwiązanie pozwala na uzyskanie produktu o lepszych cechach organoleptycznych, gdyż jak wykazały przeprowadzone w ramach projektu badania, liofilizat (proszek) jest wyczuwalny w gotowym produkcie i wpływa negatywnie na ocenę organoleptyczną. Zastosowanie mikrokapsułkowanego tłuszczem bakterii probiotycznych pozwoliło także na uzyskanie produktu gotowego o znacznie dłuższym terminie przydatności do spożycia niż wyroby opisywane w literaturze [20]. Liczebność bakterii na pożądanym poziomie, zalecanym przez WHO/FAO (tj. nie mniej niż 10^6 jtk/g), utrzymywana jest w drażetkach czekoladowych z probiotykami przez okres 9 miesięcy w temperaturze 16°C .

Na innowacyjność opracowanego produktu wpływa również fakt, że dotychczas bakterie probiotyczne były aplikowane wyłącznie do czekolady [14]. Po raz pierwszy wykorzystano zatem rdzeń drażetek czekoladowych jako miejsce dozowania probiotyków. W opracowanym wyrobie właściwości probiotyczne szczepów bakterii połączono ponadto z prebiotykiem oraz z czekoladą o obniżonej zawartości cukru, co pozwoliło na uzyskanie prozdrowotnego produktu o unikatowych cechach.

Wnioski

Przeprowadzone w ramach projektu badania pozwoliły na opracowanie drażetek czekoladowych zawierających opatentowany szczep probiotyczny *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) (zgłoszenie patentowe numer P.442281) wyróżniającej się następującymi właściwościami:

1. Jako jeden z pierwszych szczepów pochodzenia ludzkiego, wyizolowanych w Polsce, posiada w pełni poznaną sekwencję genomową.
2. Wykazuje wysoki stopień adherencji do ludzkiej linii tkankowej nabłonka jelitowego (Caco-2), dzięki czemu może blokować adherencję bakterii i grzybów chorobotwórczych.
3. Wykazuje dużą oporność na niskie pH i działanie sztucznego soku żołądkowego, co świadczy o jego doskonałym przystosowaniu do niesprzyjających warunków

panujących w trakcie pasażu przez przewód pokarmowy oraz wskazuje na możliwości jego zastosowania w żywności bądź preparatach doustnych.

4. Posiada aktywność bakteriobójczą wobec patogennych bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter fetus*, *Streptococcus mutans*, a zatem może być wykorzystany do zapobiegania zakażeniom przewodu pokarmowego i próchnicy zębów oraz do przywrócenia równowagi zaburzonej mikroflory jelitowej.
5. Wykazuje wysoką przeżywalność w warunkach produkcyjnych (m.in. podwyższonej temperaturze czy wilgotności), stąd może zostać wykorzystany jako probiotyczny składnik funkcjonalny do produkcji drażetek czekoladowych.

Uzyskane drażetki czekoladowe zawierają odpowiednią, zalecaną przez WHO/FAO liczebność szczepu probiotycznego *Lactiplantibacillus plantarum* 124B (PL8) (tj. nie mniej niż 10^6 jtk/g) w trakcie całego terminu przydatności do spożycia. Innowacyjna technologia wytwarzania wyrobów czekoladowych o porowatym rdzeniu została objęta ochroną patentową (numer zgłoszenia: P.443733), dzięki następującym rozwiązaniom:

1. Zastosowaniu technologii mikrokapsułkowania szczepów probiotycznych pochodzenia ludzkiego w nośniku tłuszczowym.
2. Utrzymaniu odpowiedniej żywotności szczepu probiotycznego w gotowym produkcie dzięki obniżeniu temperatury poszczególnych etapów procesu produkcji i aplikacji bakterii do rdzenia, którego powierzchnia została dodatkowo zabezpieczona otoczką cukrową, utrudniającą dostęp tlenu i wilgoci, negatywnie wpływających na przeżywalność probiotyków.
3. Wzbogaceniu gotowego produktu w prebiotyki (glukooligosacharydy), wspierający wzrost i namnażanie bakterii probiotycznych i sprawiający, że otrzymany produkt należy do kategorii synbiotyków.
4. Zastosowaniu korzystnego nagazowania draży czekoladowych oraz obniżeniu poziomu zawartego w nich cukru, co pozwoliło na uzyskanie produktu prozdrowotnego o pożądanym właściwościach organoleptycznych, w szczególności konsystencji i smaku.

Badania przedstawione w niniejszej publikacji zostały zrealizowane i sfinansowane z projektu "Nowoczesne formy aplikacji substancji prozdrowotnych w postaci wyrobów czekoladowych o porowatym rdzeniu" Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Małopolskiego 2014-2020, Poddziałanie 1.2.1 "Projekty badawczo-rozwojowe przedsiębiorstw" przez Konsorcjum: Maspex-GMW Sp. z o.o. oraz Prolab Sp. z o.o. Sp. Komandytowa.

Numer projektu: RPMP.01.02.01-12-0413/17.

Literatura

- [1] Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1966, 45(4), 493-496.
- [2] Binns N., Howlett J.: Functional food in Europe: International developments in science and health claims. Summary report of an international symposium held 9-11 May 2007, Portomaso, Malta. *Eur. J. Nutr.*, 2009, 48, 3-13.
- [3] Błaszczak A., Grzeškiewicz W.: Żywność funkcjonalna – szansa czy zagrożenie dla zdrowia? *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu*, 2014, 20(2), 214-221.
- [4] Bojanowska A.: Badania komunikacji marketingowej na polskim rynku żywności. Wyd. Politechnika Lubelska, Lublin 2022, ss. 75-89.
- [5] Brolazo EM., Leite DS., Tiba MR., Villarreal M., Marconi C., Simoes JA.: Correlation between api 50 ch and multiplex polymerase chain reaction for the identification of vaginal lactobacilli in isolates. *Braz. J. Microbiol.*, 2011, 42(1), 225-32.
- [6] Chmielewska M., Tys J., Petkowicz J., Petkowicz B.: Żywność po pierwsze nie szkodzić. *Acta Agrophys.*, 2018, 25(1), 22-25.
- [7] Contor L.: Functional food science in Europe. *Nutr., Metab. Cardiovas. Dis.*, 2001, 11(14), 20-33.
- [8] Da Silva T.F., Casarotti S.N., de Oliveira G.L.V., Penna A.L.B.: The impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics on the biochemical, clinical, and immunological markers, as well as on the gut-microbiota of obese hosts. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2021, 61, 337-355.
- [9] Dashkevich M.P., Feighner S.D.: Development of a differential medium for bile salt hydrolase activity *Lactobacillus spp.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, 55(1), 1-16.
- [10] Douglas L.C., Sanders M.E.: Probiotics and prebiotics in dietetics practice. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2008, 108, 510-521.
- [11] Gueimonde M., Sánchez B., de los Reyes-Gavilán C.G., Margolles A.: Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front. Microbiol.*, 2013, 4, 1-6.
- [12] Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. [on line]. EFSA J. Dostęp w internecie [24.05.2023]: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5206>
- [13] Guidelines for the Evaluation Of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. [on-line]. FAO/WHO. Dostęp w internecie [24.05.2023]: <http://fanus.com.ar/posgrado/10-09-25/fao%20probiotics.pdf>.
- [14] Hossain M., Senaka Ranadheera C., Fang Z., et al.: Viability of *Lactobacillus delbrueckii* in chocolates during storage and *in-vitro* bioaccessibility of polyphenols and SCFAs. *Cur. Res. Food Sci.*, 2022, 5, 1266-1275.
- [15] Karwowska A., Bogacz A.: Żywność funkcjonalna w Polsce – dziś i jutro. *Przemysł Farmaceutyczny i Owocowo-Warzywny*, 2007, 12, 22.
- [16] Kobus-Cisowska J., Szymanowska D., Maciejewska P., et al.: Enriching novel dark chocolate with *Bacillus coagulans* as a way to provide beneficial nutrients. *Food Funct. J.*, 2019, 10(2), 997-1006.
- [17] Korbutowicz T.: Żywność funkcjonalna na rynku światowym. *Studia i Prace WNEiZ US.*, 2018, 53(2), 214-215.
- [18] Kubuński T.: Żywność funkcjonalna. *Życie Weterynaryjne*, 2010, 85(11), 932-935.
- [19] Michalska-Szymaszek M.: Wpływ kwaśnego odczynu na szczepy *Escherichia coli* O157 izolowane z wody powierzchniowej i materiału klinicznego. *Roczniki PZH.*, 2009, 60(3), 229-233.

- [20] Mirković M., Seratlić S., Kilcawley K., et al.: The Sensory Quality and Volatile Profile of Dark Chocolate Enriched with Encapsulated Probiotic *Lactobacillus plantarum* Bacteria. *Sensors*, 2018, 18(8), #2570.
- [21] Mojka K.: Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki – charakterystyka i funkcje. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2014, 95(3), 541-549.
- [22] Olędzka R.: Nutraceutyki, żywność funkcjonalna – rola i bezpieczeństwo stosowania. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna.*, 2007, 40, 1-8.
- [23] Paliwoda A., Nowak A.: Czynniki warunkujące zdolności adhezyjne bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. *Postępy Mikrobiologii*, 2017, 56(2), 196-204.
- [24] Pascal G.: Safety impact-the risk/benefits of functional foods. *Eur. J. Nutr.*, 2009, 48, 33-59.
- [25] Rafter J., Bennett M., Caderni G.: Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007, 85(2), 488-496.
- [26] Pierezan, M., Camelo-Silva C., Ambrosi, A.: Probiotic and Synbiotic Chocolate. In: Gomes da Cruz, A., Silva, M., Colombo Pimentel.: *Probiotic Foods and Beverages. Methods and Protocols in Food Science.* Humana, New York, NY., 2023.
- [27] Rzepkowska A., Zielińska D., Kołożyn-Krajewska D.: Przeżywalność szczepów *Lactobacillus* wyizolowanych z żywności w warunkach modelowego przewodu pokarmowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2015, 3(100), 42-52.
- [28] Strus M.: Nowa metoda oceny antagonistycznego działania bakterii kwasu mlekowego (LAB), na wybrane, chorobotwórcze bakterie wskaźnikowe. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1998, 50, 123-130.
- [29] Strus M., Kukla G., Rurańska-Smutnicka D.: Właściwości powierzchniowe bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. II Adherencja do lini komórkowych. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2001, 53, 253-8.
- [30] Ślizewska K., Nowak A., Barczyńska R., Libudzisz Z.: Prebiotyki – definicja, właściwości, i zastosowanie, w przemyśle. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2013, 1 (86), 5-20.
- [31] Tuomola E.M., Salminen S.J.: Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, 41, 45-51.
- [32] Walter J., Tannock G.W., Tilsala-Timisjarvi A., Rodtong S., Loach D.M., Munro K., Alattossava T.: Detection and identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific PCR primers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66(1), 297-303.
- [33] Weiss C., Clark H.F.: Rapid inactivation of rotaviruses by exposure to acid buffer and acidic gastric juice. *J. Gen. Virol.*, 1985, 66, 2725-2730.

THE APPLICATION OF THE PROBIOTIC STRAIN *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* PL8 IN THE PRODUCTION OF CHOCOLATE PRODUCTS WITH A POROUS CORE

S u m m a r y

Background. A healthy lifestyle, which has been promoted in recent years, is manifested through increased demand for foodstuffs the biggest nutritional value and specific health-promoting features. For this reason, consumers often choose functional food, which, apart from the nutritional effect, has a beneficial effect on one or more functions of the body, proven by scientific research. The aim of the research was to develop an innovative chocolate product with a porous core enriched with functional ingredients. In order to select the probiotic strain best adapted to the production conditions of chocolate dragées, a detailed characterization of 20 bacteria from the genera *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* and *Limosilactoba-*

cillus included in the study was carried out, i.e. phenotypic and genotypic identification, drug susceptibility testing, resistance analysis to bile salts and gastric juice, adherence to intestinal epithelial cells, testing of antibacterial activity. The strains were also subjected to quantitative analyses in terms of their survival under industrial conditions. The influence of increased temperature and humidity, low pH, the presence of oxygen, the addition of a prebiotic and the type of industrial medium on the growth of probiotic bacteria was studied. The method of producing a chocolate dragée composed of a chocolate core, aerated with gas, containing a probiotic strain a prebiotic, and sugar coating was also developed.

Results and conclusions. The conducted research allowed the selection of strain of *Lactiplantibacillus plantarum* PL8 and the development of a method of its application to chocolate dragées in the liquid microencapsulated form in the fat carrier of the graft. The obtained chocolate product, containing, apart from the probiotic, also a prebiotic (glucooligosaccharide), meets the requirements of WHO/FAO regarding the content of probiotic bacteria in food, i.e. the number of bacteria not less than 10^6 CFU/g throughout the shelf life. The developed chocolate dragées display unique health-promoting properties and attractive organoleptic qualities.

Key words: probiotics, prebiotics, functional food, *Lactiplantibacillus plantarum* PL8, chocolate products



AGATA ZNAMIROWSKA-PIOTROWSKA, OKSANA PETRUSHA,
MAŁGORZATA PAWLOS, MAGDALENA KOWALCZYK,
MAGDALENA BUNIEWSKA-OLEJNIK, KATARZYNA SZAJNAR

THE EFFECT OF PSYLLIUM FIBER AND CHOKEBERRY FIBRE ADDITION ON THE QUALITY OF PROBIOTIC FERMENTED MILK

S u m m a r y

Background. Fiber from fruit, vegetables and other sources of fiber can increase gut microbiota diversity and show anti-inflammatory activity. The use of fiber in the manufacture of probiotic fermented milk has excellent potential, as it can offer several benefits for both consumers and producers. In addition to its well-known physiological benefits, dietary fiber may reduce the risk of diseases of civilization. Consumers expect that current foods are health-promoting. Consumer awareness is increasing through an expanding variety of products and advertising campaigns favoring health-promoting foods, a trend that food manufacturers are also taking advantage of. The aim of the study was to determine the effect of psyllium fiber and chokeberry fiber addition in combination with probiotic cultures *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 and *Lactocaseibacillus casei* 431 on the quality of fermented milk. To investigate the effect of fiber on fermented milk quality, acidity, texture properties, syneresis and color were measured, moreover, an organoleptic evaluation and microbiological analysis were performed.

Results and conclusion. Natural additives such as chokeberry fiber and psyllium fiber can be used in the production of milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L.casei*. Psyllium fiber can be recommended for its syneresis-reducing properties. Whereas chokeberry fiber, due to its high polyphenol content, can be used as a natural colorant and taste-enhancing additive. Adding fiber as chokeberry or psyllium positively stimulated the growth and survival of *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* bacteria during storage. The hardness of the milk gel fermented by *Bifidobacterium* BB-12 or *L. casei* was significantly improved by adding psyllium fiber, increasing it by as much as about 2.5 N, and this trend was also maintained after 28 days of storage. Studies on using various fibers in fermented milk production should be continued to determine their health-promoting and technological potential.

Dr hab. inż. prof. UR A. Znamiorska-Piotrowska ORCID: 0000-0001-6064-2951, Zakład Technologii Mleczarstwa, Instytut Technologii Żywności i Żywnienia, Uniwersytet Rzeszowski; *dr O. Petrusza* ORCID: 0000-0002-6009-127X, National University of Food Technologies, Volodymyrska St, 68, Kyiv, Ukraina; *dr inż. M. Pawlos* ORCID: 0000-0002-7414-2058; *mgr inż. M. Kowalczyk* ORCID: 0000-0002-0790-3865; *dr inż. M. Buniowska-Olejnik* ORCID: 0000-0003-3795-4003; *dr inż. K. Szajnar* ORCID: 0000-0001-6399-1380, Zakład Technologii Mleczarstwa, Instytut Technologii Żywności i Żywnienia, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Ćwiklińskiej 2D, 35-601 Rzeszów. Kontakt: e-mail: aznamiorowska@ur.edu.pl

Keywords: fermented milk, chokeberry, psyllium, fiber, *Lactocaseibacillus casei*, *Bifidobacterium animalis*

Introduction

Globally, due to COVID-19 and other crises, an increase in all forms of malnutrition could be observed in the future [9]. Even today, an incorrect diet is one of the causes of diseases in the world's population [48]. Therefore, developing new nutrient-enriched products is applicable nowadays and in the future. Dairy products are the most popular category of the food market of the European Union [45]. To provide the population with well-balanced food, traditional ingredients can be used, as well as other plant ingredients with added nutritional value can also be utilized [2,28]. In recent years, many publications have concerned the application of fiber in fermented milk [13,16]. Fiber from fruit, vegetables and other fibers increase gut microbiota diversity and show anti-inflammatory activity [6,34]. The use of fiber in fermented milk has enormous potential, as it can offer a variety of benefits to both consumers and producers.

This study investigated the effects of different fiber types on the physicochemical and organoleptic properties of fermented milk, as well as the health benefits associated with consuming fiber-enriched fermented milk .

The addition of fiber in the form of Psyllium (*Plantago ovata* Forsk) might be considered an alternative method of enriching fermented dairy products [1,7] due to the presence of an active fraction of that it has arabinose 22.6 %, xylose 74.6 % and a branched structure [38].

Psyllium as a soluble fiber has the potential to stimulate bacterial growth in the digestive system [36]. There have been attempts to combine psyllium with various probiotic cultures: *Lactocaseibacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *S. boulardii* and *Lactocaseibacillus rhamnosus* and others [3, 22, 36, 49].

A potential fruit source of fiber is chokeberry [5]. Chokeberry has a substantial anthocyanin content, indicating its high antioxidant activity [19]. Due to the high content of anthocyanins, chokeberry fruits benefit the cardiovascular system due to their ability to seal blood vessels and provide capillaries with elasticity and proper permeability [27]. Regular consumption of chokeberry improves digestion, stabilizes the cardiovascular and digestive systems and has a disinfectant and antisclerotic effect on the human body [29, 21]. Furthermore, the application of fiber in fermented milk has the potential to reduce production fees, allowing lower-cost ingredients for production, while maintaining the quality of the product. Globally, the potential for applying fiber in fermented milk is substantial, as it can offer a wide range of benefits to both con-

sumers and producers. Therefore, increasing attention and development of fiber-enriched fermented dairy products will probably continue to be observed in the coming years. Thus, the aim of the study was to determine the effect of psyllium fiber and chokeberry fiber addition in combination with probiotic cultures *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 and *Lacticaseibacillus casei* 431 on the quality of fermented milk.

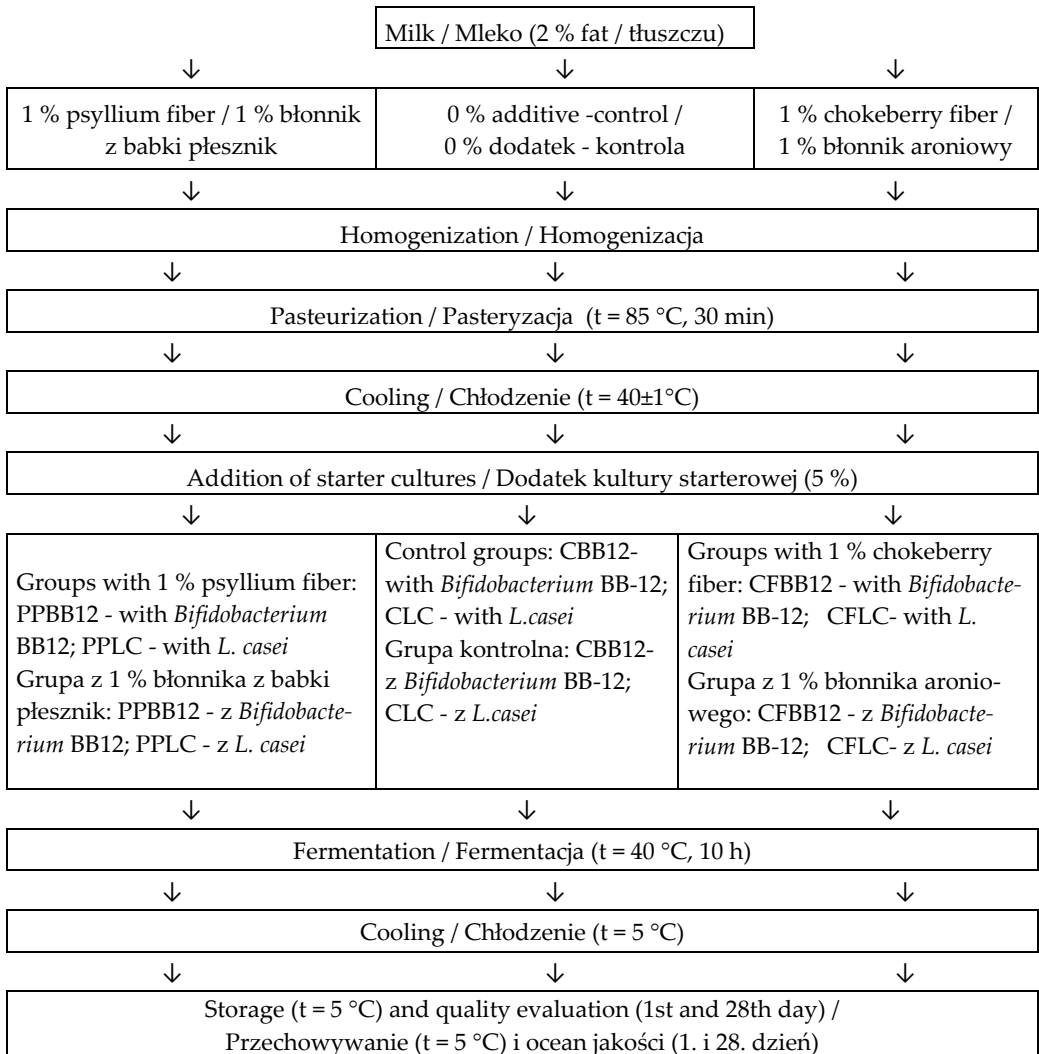
Material and methods

Material

Łaciate milk, 2 % fat (SM Mlekpól, Grajewo, Poland), was used as a raw material for the production of fermented milk. The psyllium fiber (*Plantago psyllium* L.) was purchased from Purasana Ltd. (Komen, Slovenia), and chokeberry fiber was obtained from Bio Planet (Leszno, Poland). Starter cultures of two probiotic strains *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 and *Lacticaseibacillus casei* 431 were purchased from Chr. Hansen (Hoersholm, Denmark). Sodium hydroxide (0.1 M NaOH) and phenolphthalein were purchased from Chempur (Piekary Śląskie, Poland).

Manufacture of fermented milk

Milk with fiber was heated to 60°C and homogenized with a homogenizer Nuoni GJJ-0.06/40 (Zhejiang, China), at the pressure of 20 MPa. A control sample without fiber addition was also prepared. The milk was then repasteurized at 85 °C for 30 min and cooled to 40 °C. The milk samples were divided into batches: control (without the addition of fiber), with a 1 % addition of psyllium fiber and a 1 % addition of chokeberry fiber. At the next stage, a previously activated single starter monoculture of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 (*Bifidobacterium* BB-12) and monoculture of *Lacticaseibacillus casei* 431 (*L. casei*) were added to each batch of milk (Scheme 1). Starter cultures of *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* were activated at 40 °C for 5 hours and added to the milk in the amount of 5 %, using the method of Szajnar et al. [41]. After mixing, the milk was poured into 100 ml plastic containers. The fermentation process was carried out at 40 °C for 10 hours. The fermented milk was cooled to 5 °C (Cooled Incubator ILW 115, POL-EKO Aparatura, Wodzisław Śląski, Poland). A total of 60 samples were manufactured and five samples from each group were analyzed on two occasions after 1 and 28 days of storage.



Scheme 1. Production scheme for probiotic fermented milk with psyllium fiber and chokeberry fiber
Schemat 1. Technologia produkcji probiotycznego mleka fermentowanego z dodatkiem błonnika z babki płesznik i błonnika z aronii

Acidity and pH measurement

The pH of the milk with the addition of psyllium raw powder and chokeberry fiber and after the fermentation process was measured with a pH-meter FiveEasy (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) with InLab®Solids Pro-ISM electrode (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) [41]. The method described by Jemaa et al. [17] was used to measure lactic acid content: the fermented milk samples were titrated with 0.1

M NaOH solution, using phenolphthalein as indicator, and lactic acid content was expressed as g lactic acid L⁻¹.

Syneresis

The centrifuge method [37], with modifications, was used for measuring syneresis in the fermented milk samples (laboratory refrigerated centrifuge LMC-4200R, Biosan SIA, Riga, Latvia). A 10 g portion of fermented milk was weighed into a 50 mL plastic tube and centrifuged at 4000 rpm for 10 min. Syneresis was determined as the mass percentage of the separated whey in the product.

Evaluation of color

The color was determined with a colorimeter (Precision Colorimeter, Model NR 145, Shenzhen, China) using the CIE L*a*b* system. The following parameters were determined: L*—as lightness (from 0—black to 100—white), a*—as color from red (+) to green (-), b*—as color from yellow (+) to blue (-) [21]. Before measurement, the device was calibrated on a white reference standard [26].

Texture profile

A texture profile analysis, including the measurement of hardness [N], cohesiveness, adhesiveness [mJ] and springiness [mm], was executed using an instrumental method described by Znamirowska et al. [50]. The analysis was performed on a 100 mL fermented milk sample, whose temperature was 8 °C, and the cylindrical dimensions of the sample were 66 mm × 33.86 mm. The test was performed using CT3 Texture Analyzer with Texture Pro CT software (Brookfield AMETEK, Berwyn, PA, USA), acrylic probe TA3/100 (diameter 35 mm), TABTKIT table and settings: measurement speed 1 mm/s, trigger load 0.1 N, test termination distance 15 mm.

Microbiological analysis

The pour plate method using MRS agar (Biocorp, Poland) [24, 32] was employed to determine the viable counts of *Bifidobacterium* BB12 and *L. casei*. Incubation was carried out in a vacuum desiccator with GENbox anaer (Biomérieux, Warsaw, Poland). The process was conducted under anaerobic conditions at 37 °C for 72 hours. Following the incubation, colonies were counted with a colony counter (TYP J-3, Chemland, Stagard Szczeciński, Poland). Viable cell count was expressed as log CFU g⁻¹.

Organoleptic evaluation

An organoleptic evaluation of the probiotic fermented milk with the addition of psyllium fiber and chokeberry fiber was carried out by a sensory panel (previously trained ten men and ten women) on the 1st and 28th day of cold storage. Milky-creamy taste, sour taste, a taste of the additives, sweet taste, off-taste, sour odor, an odor of

additives and off-odor [42] were evaluated on a scale with markings at both ends: 1 (undetectable) to 9 (very intense), according to PN-ISO 22935-2:2013-07 [31].

Statistical analysis

The data obtained was processed with Statistica v. 13.1 software (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) to calculate the mean, standard deviation, and Pearson's correlation coefficient. A three-way ANOVA was used to investigate the overall effect of additives and storage time (days) and the type of bacteria on the properties of the fermented milk. The significance of differences between the means was estimated with Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Results and discussion

Acidity and pH measurement

The milk after homogenization and pasteurization with fibers had significantly different pH values than the control milk (fig.1). Adding psyllium fiber reduced the pH value by 0.1 units and chokeberry fiber by 0.4 units compared to their control counterparts. This was mainly due to the presence of vitamin C and organic acids in chokeberry fruit, which ranges from 1.1 % to 1.4 % [4, 8]. The main acids identified in fresh berries are L-malic (13.1 g/kg), citric (2.1 g/kg) and quinic acid (5.9 g/kg). Shikimic acid, oxalic acid and succinic acid were considered secondary components [8, 21]. The content of free acids in the pomace is low since they transfer into the juice along with other solutes. According to Sójka et al. [39], the predominant organic acid in pomace is galacturonic acid ($5 \div 16$ g/kg).

On the first day of storage, a significantly lower pH value was determined in the milk with the addition of 1 % psyllium fiber (PPBB12, PPLC) compared to the control counterparts. In contrast, adding 1% chokeberry fiber did not significantly change the pH value. As expected, extended storage time reduced the pH value in all the fermented milk samples. Additionally, the addition of psyllium fiber significantly increased the lactic acid content of the fermented milk (PPBB12, PPLC) on the 1st day of storage. However, adding chokeberry fiber did not change the lactic acid concentration of the fermented milk. In the study by Helal et al. [13], yoghurt pH values and titratable acidity were not affected by the addition of different ratios of inulin. On the contrary, the addition of high-density inulin (1 % and 2 %) positively influenced the formation of acetaldehyde, resulting in a higher concentration than low-fat without additives, as well as the apparent viscosity of the yoghurt, which increased with the addition of inulin to 2 % and was comparable to the full-fat yoghurt.

After 28 days of storage, the lactic acid content increased significantly in the control samples CBB12 and CLC (Table 1). However, an insignificant increase in lactic

acid concentration was observed in the samples with fibers (PPBB12, CFBB12, PPLC, CFLC).

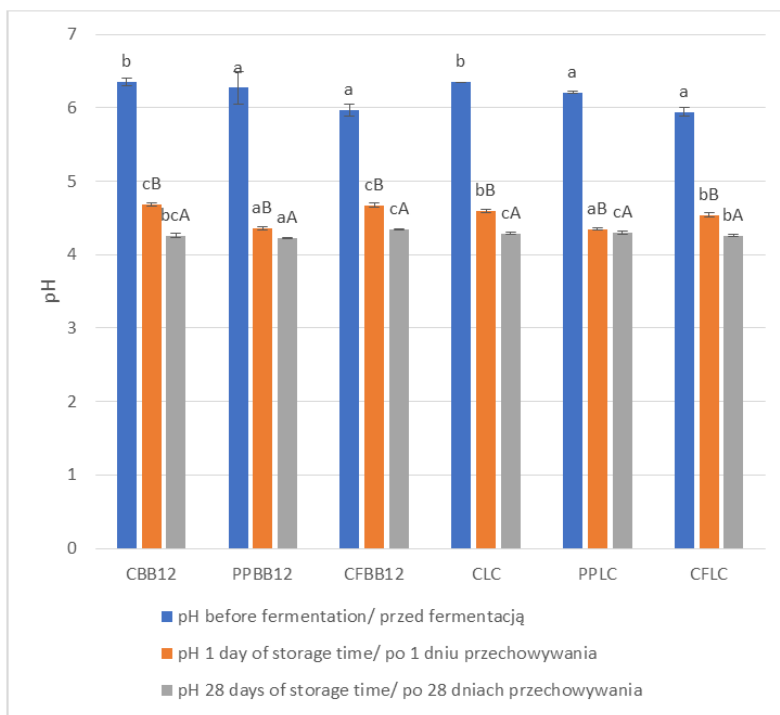


Fig. 1. pH of fermented milk by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* before fermentation, after 1 and 28 days of cold storage

Rys. 1. Wartość pH mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium* BB-12 i *L. casei* przed fermentacją, po 1 i 28 dniach przechowywania chłodniczego

Explanatory notes / objaśnienia:

CBB12-control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12-milk with 1.0 % psyllium fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1-milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC— control milk with *L. casei*; PPLC-milk with 1.0 % psyllium fiber and *L. casei*; CFLC— milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*. Values are means \pm SD, $n = 5$ for each group. ^{A,B} – means marked with different capital letters indicate statistically significant differences within a given parameter during storage at $p \leq 0.05$; ^{a-c} – mean values with different lowercase letters indicate statistically significant differences at $p \leq 0.05$ depending on the fiber and bacteria type /

CBB12-mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB 12; CLC— mleko kontrolne z *L. casei*; PPLC-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC— mleko z dodatkiem 1.0% błonnika z aronii i *L. casei*. Średnia \pm SD, $n = 5$ dla każdej grupy ^{A,B} – średnie oznaczone różnymi dużymi literami wskazują statystycznie istotne różnice time w obrębie danej cechy w czasie przechowywania przy $p \leq 0,05$; ^{a-c} - średnie oznaczone różnymi małymi literami wskazują statystycznie istotne różnice przy $p \leq 0,05$ w zależności od rodzaju błonnika i probiotycznej kultury starterowej

Syneresis

After the first day of storage, milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 showed less susceptibility to syneresis than its counterpart fermented by *L. casei* (Table 1).

Table 1. Properties of fermented milk with psyllium fiber and chokeberry fiber during cold storage
Tabela 1. Właściwości mleka fermentowanego z błonnikiem z babki płesznik i błonnikiem z aronii podczas przechowywania chłodniczego

Properties / Właściwości		Storage time [days] / Czas przechowywania [dni]	<i>Bifidobacterium</i> BB-12			<i>L. casei</i>		
			CBB12	PPBB12	CFBB12	CLC	PPLC	CFLC
Lactic acid [g·L ⁻¹] / Kwas mlekowy [g·L ⁻¹]	1	0.65 ^{aA} ±0.01	0.82 ^{cA} ±0.01	0.66 ^{aA} ±0.11	0.71 ^{bA} ±0.03	0.84 ^{cA} ±0.03	0.75 ^{bA} ±0.04	
	28	0.75 ^{aB} ±0.02	0.84 ^{bA} ±0.02	0.78 ^{aA} ±0.06	0.80 ^{aB} ±0.05	0.87 ^{bA} ±0.07	0.80 ^{aA} ±0.04	
Syneresis [%] Synereza [%]	1	21.03 ^{bA} ±2.37	14.01 ^{aA} ±0.42	28.52 ^{cA} ±0.79	28.54 ^{cA} ±0.96	21.39 ^{bA} ±1.06	38.09 ^{dA} ±1.55	
	28	42.24 ^{dB} ±0.72	20.85 ^{bB} ±0.83	35.85 ^{cB} ±1.20	46.73 ^{cB} ±1.33	23.75 ^{aB} ±0.50	42.36 ^{dB} ±1.58	
Color / Barwa	L*	1	93.27 ^{cB} ±1.23	81.70 ^{bA} ±0.95	69.98 ^{aA} ±1.28	94.03 ^{cB} ±1.11	79.37 ^{bA} ±1.12	68.12 ^{aA} ±1.01
		28	89.11 ^{dA} ±0.77	80.10 ^{cA} ±0.42	71.01 ^{aA} ±1.77	90.08 ^{dA} ±1.02	77.91 ^{bA} ±1.21	72.09 ^{bA} ±1.52
	a*	1	-2.34 ^{bA} ±0.42	-3.11 ^{aA} ±0.13	16.21 ^{cB} ±0.76	-3.01 ^{aA} ±0.21	-2.39 ^{bB} ±0.16	17.51 ^{cB} ±0.89
		28	-2.07 ^{bA} ±0.31	-3.18 ^{aA} ±0.48	11.92 ^{dA} ±1.08	-2.53 ^{bA} ±0.41	-1.77 ^{cA} ±0.18	13.02 ^{dA} ±1.02
	b*	1	9.48 ^{bA} ±0.82	12.46 ^{cA} ±1.02	0.46 ^{aA} ±0.14	10.02 ^{bA} ±0.82	11.82 ^{cA} ±0.41	0.21 ^{aA} ±0.11
		28	10.68 ^{bA} ±0.12	13.12 ^{dA} ±0.19	1.98 ^{aB} ±0.81	10.81 ^{bA} ±0.83	12.01 ^{cA} ±0.81	0.81 ^{aB} ±0.20

Explanatory notes / objaśnienia:

Values are mean±SD, n = 5 for each group; ^{a-c} – mean values denoted in rows by different lowercase letters differ significantly at $p \leq 0.05$; ^{A,B} – means in columns marked with different capital letters indicate statistically significant differences within a given parameter during storage at $p \leq 0.05$; storage time: 1 – after fermentation, 28 – after 28 days of cold storage; CBB12 – control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – milk with 1.0 % psyllium fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB12 – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC – control milk with *L. casei*; PPLC – milk with 1.0 % psyllium fiber and *L. casei*; CFLC – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*

Średnia±SD, n = 5 dla każdej grupy; ^{a-c} – średnie oznaczone w wierszach różnymi małymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$; ^{A,B} – średnie w kolumnach oznaczone różnymi dużymi literami wskazują statystycznie istotne różnice w obrębie danej cechy w czasie przechowywania przy $p \leq 0,05$; czas przechowywania: 1 – po fermentacji, 28 – po 28 dniach przechowywania chłodniczego; CBB12-mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB-12; CLC – mleko kon-

tolne z *L. casei*; PPLC-mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *L. casei*

Adding 1 % psyllium fiber to the milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 reduced syneresis by 7 % on the 1st day of storage, while adding 1 % chokeberry fiber increased syneresis by 7 %. Regarding the milk fermented by *L. casei*, the addition of psyllium fiber also reduced syneresis by about 7 %, but the addition of chokeberry fiber increased syneresis by as much as 9.5 %. The phenomenon of decreased syneresis is due to the presence of mucilage in psyllium. The mucilage of psyllium seeds is often referred to as husk or psyllium husk. Ground mucilage obtained from seeds is a hydrophilic white fibrous substance, indicating that its molecular shape causes it to absorb and bind water. Once water is absorbed, it forms a transparent, colorless, mucilaginous gel that increases in size by ten times or more [10]. Psyllium fiber containing a water-soluble hydrophilic mucilage fiber are abundant in various primary and secondary metabolites and, in addition, many bioactive compounds [43]. Extending storage time to 28 days increased syneresis in the control milk by 21.21 % in CBB12 and 18.19 % in CLC. Milk with fibers also showed higher syneresis compared to the first day of cold storage. Significantly lower syneresis was shown in the samples with psyllium fiber (PPBB12 and PPLC) by 21.39 % and 22.98 % compared to the controls. After 28 days of storage, milk with 1 % added chokeberry fiber CFBB12 had lower syneresis by about 6.4 %, and the milk with *L. casei* by approximately 4.4 % compared to their controls. However, it should be noted that milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 has a higher water retention capacity than milk with *L. casei*. These differences, due to the use of different strains, may be related to the production of exopolysaccharides under certain environmental conditions. Bacterial exopolysaccharides are characterized by high molecular weight polysaccharides, which are secreted by some bacteria into the culture medium and consist of monosaccharides [20, 25, 33, 48]. Like water-binding agents, exopolysaccharides exhibit textural properties such as viscosity, stabilization, emulsification, sweetening and gelation. Jovanovi et al. [18] studied a new probiotic yoghurt fortified with apple pomace flour, where syneresis was reduced up to 1.8 times compared to the control.

Evaluation of color

Adding fiber in the form of psyllium and chokeberry significantly influenced the $L^*a^*b^*$ color components compared to their control counterparts, both in the milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* (Table 1). The addition of chokeberry fiber (CFBB12, CFLC) caused the strongest color darkening on the 1st and 28th day of storage. The milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 with the addition of psyllium fiber (PPBB12) was characterized by a higher proportion of green and yellow color than the control (CBB12). In contrast, the milk fermented by *L. casei* with psyllium

fiber (PPLC) was characterized by a lower proportion of green color and a higher proportion of yellow color compared to the control (CLC). Extending the storage period to 28 days increased the proportion of yellow in all milk groups, which was influenced by syneresis ($r = 0.989$, $p \leq 0.05$) and the lactic acid content ($r = 0.996$, $p \leq 0.05$).

The color of the milk with chokeberry fiber results from the presence of polyphenolic compounds in chokeberry fruit. Anthocyanins present in chokeberry are the second largest group of phenolic compounds. Anthocyanins give the fruit a color that varies from orange to red and purple to blue. The concentration of hydrogen ions influences the type of the color of anthocyanins and their stability. They show greater stability in acidic environments. However, in technological processes, anthocyanins are degraded by light, oxygen and heating [31]. Several studies [4, 9, 10] demonstrated that the stability of anthocyanins, apart from food processing, depends on numerous factors, including storage temperature, pH, light, the presence of metal ions, oxygen, enzymes, ascorbic acid, sugars, sulfur dioxide or sulfites and copigments belonging to different classes of compounds. Nevertheless, the color of milk enriched with fiber from psyllium was probably influenced, among other things, by the presence of flavonoids which provide a yellow color [16].

Microbiological analysis of fermented milk

Figure 2 shows the number of viable bacterial cells of *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* after 1 and 28 days of storage of the control milk and with the addition of chokeberry fiber or psyllium fiber. The control milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 (CBB12) had comparable bacterial cell count to the control milk fermented by *L. casei* (CLC), and the observed differences were not significant. On the first day of storage, the milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 with psyllium fiber (PPBB12) showed the highest number of viable bacterial cells. On the contrary, the other fiber-fermented milk samples (CFBB12, PPLC, CFLC) had a significantly higher number of viable bacterial cells by about 1 log cfu g⁻¹ than their control counterparts. After 28 days of storage, the number of bacterial cells decreased by approximately 2 log cfu g⁻¹ compared to the first day. In the PPLC and CFLC samples, the number of viable *L. casei* bacterial cells was about 3 log cfu g⁻¹ lower compared to the first day of storage. The milk with fibers fermented by *Bifidobacterium* BB-12 (PPBB12 and CFBB12) after 28 days of storage had significantly higher bacterial cell count than the other groups. However, it should be noted that even on the 28th day of storage, all the fermented milk samples met the requirements of the International Dairy Federation's Recommendation that probiotic products should contain at least 7 log CFU g⁻¹ of lactic acid bacteria [9].

Studies by some authors report that phenolic compounds can also stimulate the growth of beneficial bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and can there-

fore modulate the intestinal microflora [23, 44]. In the study by Szajnar et al. [40], the addition of chokeberry fiber affected the stimulation of the growth of bacteria. In the milk sample without fiber addition, more viable cells were counted for *L. acidophilus* by 0.5 log CFU g⁻¹ more than the milk fermented with *L. rhamnosus*. Furthermore, in milk fermented by *L. acidophilus* with 1.5 % chokeberry fiber, the number of viable bacterial cells was higher than that in milk fermented by *L. rhamnosus* with the same addition of fiber.

Furthermore, in the study by Helal et al. [13], the viability of *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* was enhanced by adding 1 % and 2 % of inulin, while adding 3 % had a negative effect. However, no effect was reported on *Streptococcus thermophilus* viability.

An ANOVA analysis of variance indicated that the number of bacterial cells in the fermented milk was affected by factors such as storage time ($p = 0.000$), type of bacteria ($p = 0.001$), fiber addition ($p = 0.000$), and interactions between these factors ($p = 0.001$).

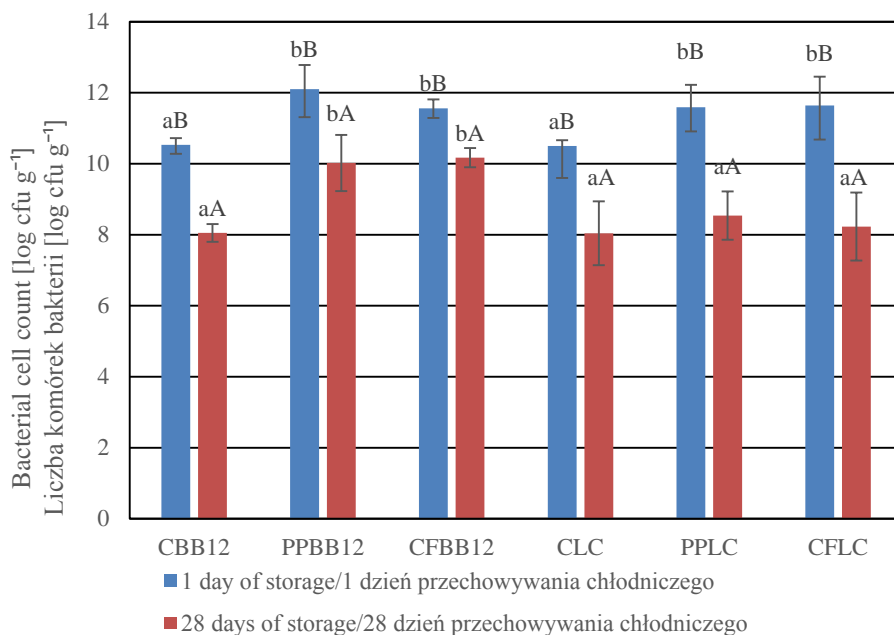


Fig. 2. Viable count in milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* after 1 and 28 days of cold storage

Rys. 2. Liczba żywych komórek bakterii w mleku fermentowanym przez *Bifidobacterium* BB-12 i *L. casei* po 1 i 28 dniach przechowywania chłodniczego

Explanatory notes / objaśnienia:

CBB12 – control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12–milk with 1.0 % psyllium seed husks and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC –

control milk with *L. casei*; PPLC – milk with 1.0 % psyllium seed husks and *L. casei*; CFLC – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*. Values are means \pm SD, $n = 5$ for each group. ^{A,B} – means marked with different capital letters indicate statistically significant differences within a given parameter during storage at $p \leq 0.05$; ^{a-c} – mean values with different lowercase letters indicate statistically significant differences at $p \leq 0.05$ depending on the fiber and bacteria type/

CBB12 – mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB-12; CLC – mleko kontrolne z *L. casei*; PPLC – mleko z dodatkiem 1,0% błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *L. casei*. Średnia \pm SD, $n = 5$ dla każdej grupy. ^{A,B} – średnie oznaczone różnymi dużymi literami wskazują statystycznie istotne różnice w obrębie danej cechy w czasie przechowywania przy $p \leq 0,05$; ^{a-c} – średnie oznaczone różnymi małymi literami wskazują statystycznie istotne różnice przy $p \leq 0,05$ w zależności od źródła błonnika i probiotycznej kultury starterowej

Texture analysis

Figure 3 shows a texture profile of the milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* after 1 and 28 days of cold storage. The hardness of the milk gel fermented by *Bifidobacterium* BB-12 or *L. casei* was significantly improved by adding psyllium fiber, increasing it by as much as about 2.5 N, and this trend was also maintained after 28 days of storage. The increase in hardness in the milk with the addition of psyllium fiber may be due to the fact that psyllium husk (polysaccharides) acts as a stabilizer in the fermented milk because it can absorb moisture, thus improving the texture of the finished fermented milk [12, 14]. A significant correlation was found between milk hardness and lactic acid content ($r = 0.969$).

The addition of chokeberry fiber to the milk, regardless of the type of probiotic strain used, resulted in a decrease in hardness compared to the control on the first day of storage. The study indicates that the addition of psyllium fiber or chokeberry fiber decreases the adhesiveness or results in similar adhesiveness to the control milk throughout the storage period. Furthermore, the determined cohesiveness in the milk with fiber addition was similar to their control counterparts and ranged from 0.41 (for CFLC) to 0.53 (for PPB12), and the differences shown were significant only in the particular cases.

In contrast, the addition of fiber and the type of probiotic strain used did not significantly affect the springiness of the fermented milk. In the study by Szajnar et al. [40], the milk with chokeberry fiber fermented with *L. acidophilus* was characterized by harder gel than its analogues fermented with *L. rhamnosus*.

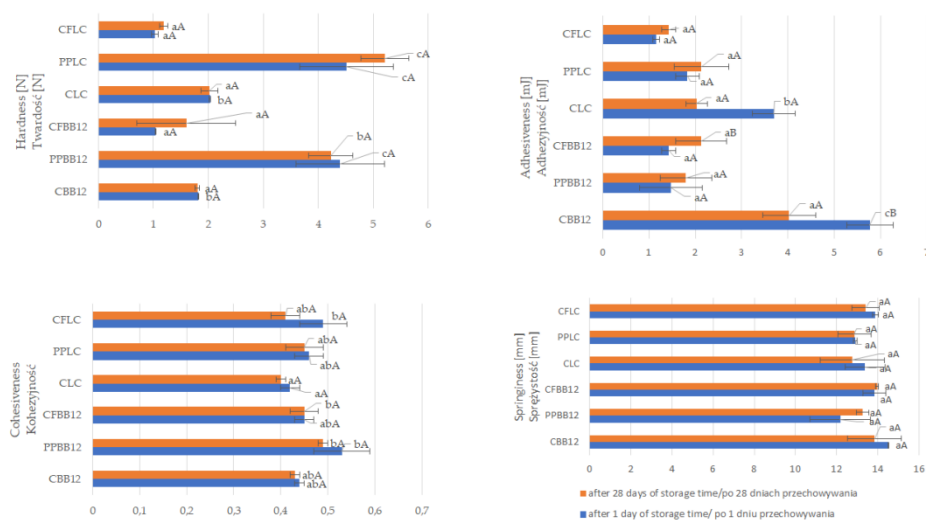


Fig. 3. Effect of fiber addition on texture profile of milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* after 1 and 28 days of cold storage

Rys. 3. Wpływ dodatku błonnika na profil teksturometryczny mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium* BB-12 i *L. casei* po 1 i 28 dniach przechowywania chłodniczego

Explanatory notes / objaśnienia:

CBB12 – control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – milk with 1.0 % psyllium fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC – control milk with *L. casei*; PPLC – milk with 1.0 % psyllium fiber and *L. casei*; CFLC – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*. Values are means \pm SD, $n = 5$ for each group. ^{A,B} – means marked with different capital letters indicate statistically significant differences within a given parameter during storage at $p \leq 0.05$; ^{a-c} – mean values with different lowercase letters indicate statistically significant differences at $p \leq 0.05$ depending on the fiber and bacteria type /

CBB12 – mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB-12; CLC – mleko kontrolne z *L. casei*; PPLC – mleko z dodatkiem 1.0% błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *L. casei*. Średnia \pm SD, $n = 5$ for each group. ^{A,B} – średnie oznaczone różnymi dużymi literami wskazują statystycznie istotne różnice w obrębie danej cechy w czasie przechowywania przy $p \leq 0,05$; ^{a-c} – średnie oznaczone różnymi małymi literami wskazują statystycznie istotne różnice przy $p \leq 0,05$ w zależności od źródła błonnika i probiotycznej kultury starterowej

Organoleptic analysis

The results of the organoleptic analysis are presented in Figure 4a and Figure 4b. The control milk, without fiber addition, fermented by *Bifidobacterium* BB-12 or *L. casei*, was characterized by a more intense milky-creamy taste than the milk with psyl-

lium fiber or chokeberry fiber. The addition of psyllium fiber or chokeberry fiber neither enhanced the sour taste nor affected the differences in the intensity of the sweet taste. Furthermore, off-taste and off-odor in the control milk and the milk with fiber additives were not detectable, regardless of the type of probiotic strain used. As expected, the additive taste and odor were perceptible in the milk with psyllium fiber and in the milk with chokeberry fiber. A consumer panel evaluating the fermented milk samples on days 1 and 28 of the organoleptic evaluation indicated that the storage time did not significantly affect the quality of the product, as the marks given were similar to those on the 1st day. This was also confirmed by an ANOVA analysis of variance, which indicated that the factor that significantly affected the taste of the product was the addition of fiber ($p < 0.007$), while the storage time was found to be insignificant.

Furthermore, in a study by Sadowska et al. [35] on the functional properties of fruit fiber preparations and their application in wheat bakery products (Kaiser Rolls), it was found that chokeberry fiber product influenced the color and was the darkest with a purplish-brown hue. The fibers used showed a fruity taste and odor characteristic of the fruit species used, with no off-taste or aftertaste. In a study by Bhat et al. [3], yoghurt with 0.5 % psyllium fiber was found to be the most acceptable during a sensory evaluation.

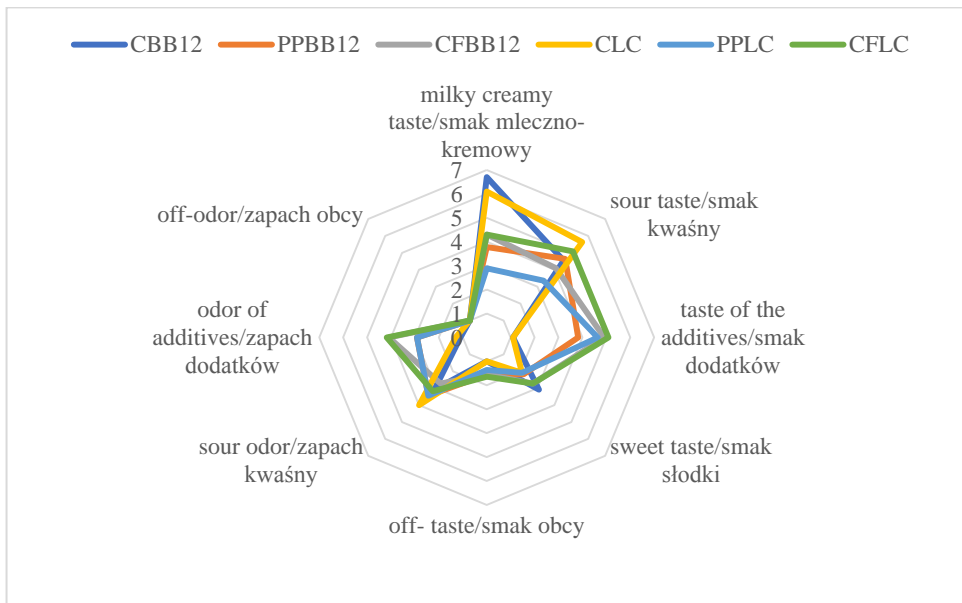


Fig. 4a. Effect of fiber addition on organoleptic parameters of fermented milk after 1 day of cold storage
Rys. 4a. Wpływ dodatku błonnika na właściwości organoleptyczne mleka fermentowanego po 1 dniu przechowywania chłodniczego

Explanatory notes / Objaśnienia:

CBB12 – control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – milk with 1.0 % psyllium fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1-milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC – control milk with *L. casei*; PLLC – milk with 1.0 % psyllium fiber and *L. casei*; CFLC – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*; n = 20 for each group

CBB12 – mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB-12; CLC – mleko kontrolne z *L. casei*; PLLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC – mleko z dodatkiem 1.0% błonnika z aronii i *L. casei*; n = 20 dla każdej grupy

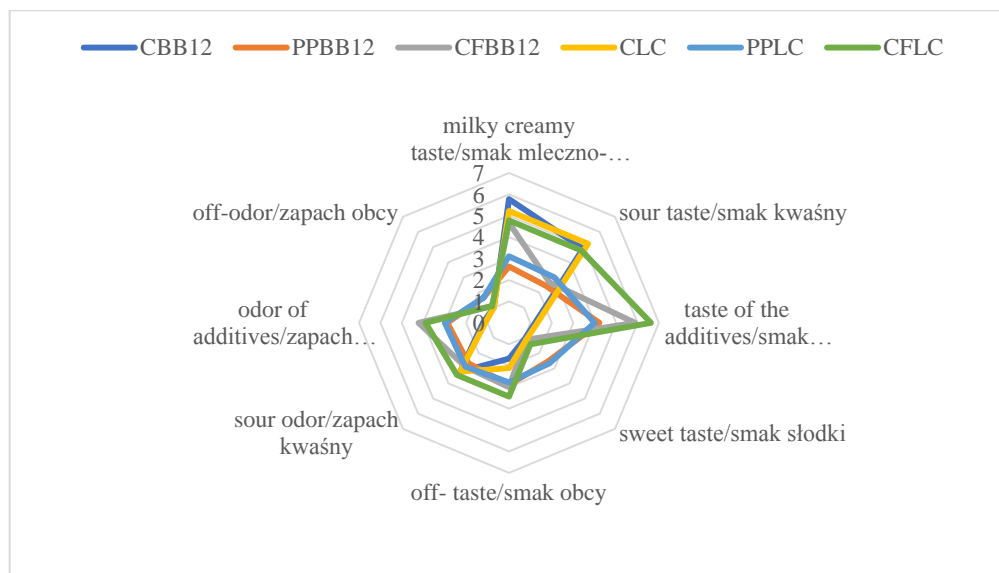


Fig. 4b. Effect of fiber addition on organoleptic parameters of fermented milk after 28 days of cold storage

Rys. 4b. Wpływ dodatku błonnika na właściwości organoleptyczne mleka fermentowanego po 28 dniach przechowywania chłodniczego

Explanatory notes / objaśnienia:

CBB12 – control milk with *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – milk with 1.0 % psyllium fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1-milk with 1.0 % chokeberry fiber and *Bifidobacterium* BB-12; CLC – control milk with *L. casei*; PLLC – milk with 1.0 % psyllium fiber and *L. casei*; CFLC – milk with 1.0 % chokeberry fiber and *L. casei*; n = 20 for each group

CBB12 – mleko kontrolne z *Bifidobacterium* BB-12; PPBB12 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *Bifidobacterium* BB-12; CFBB1 – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *Bifidobacterium* BB-12; CLC – mleko kontrolne z *L. casei*; PLLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z babki płesznik i *L. casei*; CFLC – mleko z dodatkiem 1.0 % błonnika z aronii i *L. casei*; n = 20 dla każdej grupy

Conclusions

1. Psyllium fiber reduced syneresis, increased gel hardness, induced color darkening, improved the proportion of yellow and had a favorable effect on the growth and

survival of the *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei* strains, however, did not affect the organoleptic characteristics of the fermented milk.

2. Chokeberry fiber increased syneresis only on the first day of storage, reducing syneresis by $4.0 \div 6.0$ % on the 28th day. The addition enhanced the proportion of red color, reduced the hardness of the gel and contributed to the desired flavor. The chokeberry fiber provided favorable conditions for the growth and survival of the studied probiotic strains.
3. Natural additives such as chokeberry fiber and psyllium fiber can be used in the production of milk fermented by *Bifidobacterium* BB-12 and *L. casei*.
4. Psyllium fiber can be recommended for its syneresis-reducing properties. However, chokeberry fiber, due to its high polyphenol content, can be used as a natural colorant and taste-enhancing additive.
5. Studies on the use of various fibers in fermented milk production should be continued to determine their technological and health-promoting potential.

References

- [1] Amini S., Yousefi, S., Akbarian Moghari, A.: Development and quality characterization of liquid Kashk by incorporating psyllium (*Plantago ovata* Forsk) hydrocolloid gel. J. Food Measur. Character., 2018, 12, 1669-1677.
- [2] Beal T., White J. M., Arsenault J. E., Okronipa H., Hinnouho G. M., Morris, S. S.: Comprehensive Nutrient Gap Assessment (CONGA): A method for identifying the public health significance of nutrient gaps. Nutr. Rev., 2021, 79 (1), 4-15.
- [3] Bhat S.V., Deva A.M., Amin, T.: Physicochemical and textural properties of yogurt fortified with psyllium (*Plantago ovata*) husk. J. Food Process. Preserv., 2018, 42, 1-9.
- [4] Boncheva M., Georgiev G., Shishov V.: Effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice in improving medical test results and creating a feeling of health in patients with non-alcoholic fatty liver disease-NAFLD (steatosis). J. Gen Med. Bulgaria 2013, 2, 21-30.
- [5] Celka Z., Szkudlarz, P. Spontaneous occurrence and dispersion of *Aronia x prunifolia* [Marshall] rehder [Rosaceae] in Poland on the example of the 'Bagna' bog complex near Chlebowo [western Poland]. Acta Soc. Bot. Poloniae, 2010, 79(1), 37-42.
- [6] de Oliveira F. L., Arruda T. Y. P., Morzelle M. C., Pereira, A. P. A., Casarotti, S. N.: Fruit by-products as potential prebiotics and promising functional ingredients to produce fermented milk. Food Res. Int., 2022, 161, 111841.
- [7] Dello Staffolo, M., Sato A. C., Cunha R. L.: Utilization of plant dietary fibers to reinforce low-calorie dairy dessert structure. Food Bioproc. Technol., 2017, 10, 914-925.
- [8] Denev P., Kratchanova M., Petrova I., Klisurova D., Georgiev Y., Ognyanov M., Yanakieva I.: Black Chokeberry (*Aronia Melanocarpa* (Michx.) Elliot) Fruits and Functional Drinks Differ Significantly in Their Chemical Composition and Antioxidant Activity. J. Chem. 2018, 2018, 1-11.
- [9] FAOSTAT, "Statistics database," 2018, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/>
- [10] Fischer M.H., Yu N., Gray G.R., Ralph J., Anderson L., Marlett J.A.: The gel-forming polysaccharide of psyllium husk (*Plantago ovata* Forsk. Carbohydr. Res., 2004, 339(11), 2009-2017.
- [11] Hadjimbei E., Botsaris G., Chrysostomou S.: Beneficial effects of yoghurts and probiotic fermented milks and their functional food potential. J. Food Sci. Technol., 2022, 11 (17), 2691, 1560-1569.

- [12] Hashim I. B., Khalil A. H., Afifi, H. S.: Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fibre. *J. Dairy Sci.*, 2009, 92(11), 5403-5407.
- [13] Helal A., Rashid N., Dyab N., Al-Otaibi M., Alnemr T. Enhanced Functional, Sensory, Microbial and Texture Properties of Low-Fat Set Yogurt Supplemented With High-Density Inulin. *J. Food Process. Bever.*, 2018, 6(1), 1-11.
- [14] Hussein M. M., Fatma A. M., Hassan H. H., Abdel D., Salama A., Enab A. K.,...El-Galil, A. Utilization of some plant polysaccharides for improving yogurt consistency. *Ann. Agricult. Sci.*, 2011, 56, 97-103.
- [15] Issar K., Sharma P. C., Gupt, A. Utilization of apple pomace in the preparation of fiber- enriched *acidophilus* yoghurt. *J. Food Process. Preserv.*, 2017, 41(4), 13098.
- [16] Jasiński M., Mazurkiewicz E., Rodziewicz P., Figlerowicz M.: Flawonoidy - budowa, właściwości i funkcja ze szczególnym uwzględnieniem roślin motylkowatych. [in Polish] (Flavonoids' structure, properties and particular function for legume plants), *Biotechnologia*, 2009, 85.(2), 81-94.
- [17] Jemaa M.B., Falleh H., Neves M.A., Isoda H., Nakajima M., Ksouri R.: Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. *Food Chem.*, 2017, 217, 726-734.
- [18] Jovanović M., Petrović M., Miočinović J., Zlatanović S., Laličić Petronijević J., Mitić-Ćulafić D., Gorjanović S. Bioactivity and Sensory Properties of Probiotic Yogurt Fortified with Apple Pomace Flour. *Foods*. 2020, 10;9(6):763.
- [19] Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Sumczynski D., Sochor J., Hlavacov, I., Orsavova, J.: Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, 2017, 22 (6), 944.
- [20] Kowalczyk M., Znamirska A., Buniowska M.: Probiotic Sheep Milk Ice Cream with Inulin and Apple Fiber. *Foods*, 2021, 10, 678.
- [21] Kšonžeková P., Bystrický P., Vlčková S., Pätoprstý V., Pulzová L., Mudroňová D., ... Tkáčiková E.: Exopolysaccharides of *Lactobacillus reuteri*: their influence on adherence of *E. coli* to epithelial cells and inflammatory response. *Carbohydr. Polym.* 2016, 141, 10–19.
- [22] Kulling S. E., Rawel H. M.: Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med.*, 2008, 74(13), 1625-1634.
- [23] Ladjevardi Z. S., Gharibzahed, S. M. T., Mousavi M.: Development of a stable low-fat yogurt gel using functionality of psyllium (*Plantago ovata* Forsk) husk gum. *Carbohydr. Polym.*, 2015, 125, 272-280.
- [24] Lee H.C., Jenner A.M., Low C.S., Lee Y.K.: Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Res Microbiol.*, 2006, 157, 876-884.
- [25] Lima K.G.D., Kruger M.F., Behrens J., Destro M.T., Landgraf M., Franco B.D.G.M.: Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2009, 42, 491-495.
- [26] Llamas I., Amjres H., Mata J.A., Quesada E., Béjar V.: The potential biotechnological applications of the exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium *Halomonas almeriensis*. *Molecules*, 2012, 17(6), 7103–7120.
- [27] Ly B. C. K., Dyer E. B., Feig J. L., Chien A. L., Del Bino S.: Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. *Journal of Investigative Dermatology*, 2020, 140(1), 3-12.

- [28] Moroşanu A. I., Ciocoiu M., Bădescu L., Bădescu M.: Antioxidant effect of aronia versus sambucus on murine model with or without arterial hypertension. *Annals of the Romanian Society for cell biology*, 2011, 16(1), 222-227.
- [29] Nath A., Vatai G., Bánvölgyi S.: Functional Foods and Bioactive Compounds through Environmentally Benign Emerging Processes. *Processes*, 2023, 11(4), 1182.
- [30] Olas B., Wachowicz B., Nowak P., Kedzierska M., Tomczak A., Stochma A., Piekarski, J.: Studies on antioxidant properties of polyphenol-rich extract from berries of *Aronia melanocarpa* in blood platelets. *Acta Physiol. Pol.*, 2008, 59(4), 823-835.
- [31] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napoi [in Polish], Stabilization and application of anthocyanin chokeberry dye to coloring of beverages. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2002, 1(1), 37-45.
- [32] PN-ISO 22935-2:2013-07; In Milk and Milk Products - Sensory Analysis - Part. 2: Recommended Methods for Sensory Evaluation. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2013. [In Polish]
- [33] Proksch E., Segger D., Degwert J., Schunck M., Zague V., Oesser S.: Oral supplementation of specific collagen peptides has beneficial effects on human skin physiology: A double-blind, placebo-controlled study. *Ski. Pharmacol. Physiol.*, 2014, 27, 47-55.
- [34] Ren W., Xia Y., Wang G., Zhang H., Zhu S., Ai L.: Bioactive exopolysaccharides from a *S. thermophilus* strain: screening, purification and characterization, *Int. J. Biol. Macromol.* 2016, 86, 402-407.
- [35] Rodríguez R., Jimenez A., Fernández-Bolanos J., Guillen R., Heredia A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, 17(1), 3-15.
- [36] Sadowska A., Swiderski F., Siol M., Niedziółka D., Najman K.: Functional Properties of Fruit Fibers Preparations and Their Application in Wheat Bakery Products (Kaiser Rolls). *Agriculture*, 2022,12, 1715.
- [37] Sadrani H., Patel B., Dave J., Vyas, B. R. M.: In Vitro Characterization of *Lactobacillus paracasei* HML1 Microencapsulated with Alginate Containing Prebiotics Inulin and Psyllium. *Int. J. Adv. Res.*, 2015, 3(7), 61-71.
- [38] Santillan-Urquiza E., Mendez-Rojas M., Valez-Ruiz J.F.: Fortification of yogurt with nano and micro sized calcium, iron and zinc, effect on the physicochemical and rheological properties. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2017, 80, 462-469.
- [39] Singh, B.: Psyllium as therapeutic and drug delivery agent. *International journal of pharmaceutics*, 2007, 334(1-2), 1-14.
- [40] Sójka M., Kołodziejczyk K., Milala J.: Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Ind. Crop. Prod.* 2013, 51, 77-86.
- [41] Szajnar K., Pawlos M., Znamirowska A. The Effect of the Addition of Chokeberry Fiber on the Quality of Sheep's Milk Fermented by *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus*. *Int. J. Food Sci.* 2021, 11, 7928745.
- [42] Szajnar K., Znamirowska A., Kalicka D., Kuźniar P.: Fortification of yoghurts with various magnesium compounds. *J. Elem.*, 2017, 22, 559-568.
- [43] Szajnar K., Znamirowska A., Kuźniar P.: Sensory and textural properties of fermented milk with viability of *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. lactis BB-12 and increased calcium concentration. *Int. J. Food Prop.*, 2020, 23, 582-598.
- [44] Talukder P., Talapatra S., Ghoshal N., Sen Raychaudhuri S.: Antioxidant activity and high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds during in vitro callus culture

- of *Plantago ovata* Forsk. and effect of exogenous additives on accumulation of phenolic compounds. *J. Sci. Food Agric.* 2016, 15, 96(1), 232-44.
- [45] Tzonuis X., Vulevic J., Kuhnle G.G., George T., Leonczak J., Gibson G.R., Kwik-Urbe C., Spencer J.P.: Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *Br. J. Nutr.*, 2008, 99, 782-792.
- [46] Van Dam I., Wood B., Sacks G., Allais O., Vandevijvere S.: A detailed mapping of the food industry in the European single market: similarities and differences in market structure across countries and sectors. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Activ.*, 2021, 18 (1), 1-15.
- [47] World Health Organization (WHO). (2022), World health statistics 2022: monitoring health for the SDGs. Available online: sustainable development goals <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051157> (December, 2022)
- [48] Zannini E., Waters D.M., Coffey A., Arendt E.K.: Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016, 100 (3), 1121–1135.
- [49] Zhang M., Luo T., Zhao X., Hao X., Yang Z.: Interaction of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 with whey proteins and functionalities of the polymer complex. *Journal of Food Science*, 2020, 85(12), 4141-4151.
- [50] Znamirska A., Szajnar K., Pawlos M.: Organic magnesium salts fortification in fermented goat's milk. *Int. J. Food Prop.*, 2019, 22, 1615-1625.


WPLYW DODATKU BŁONNIKA Z BABKI PLESZNIK I BŁONNIKA Z ARONII NA JAKOŚĆ PROBIOTYCZNEGO MLEKA FERMENTOWANEGO

Streszczenie

Wprowadzenie. Błonnik z owoców, warzyw i błonnik innego pochodzenia mogą zwiększać różnorodność mikroflory jelitowej i wykazywać działanie przeciwzapalne. Zastosowanie błonnika do produkcji probiotycznego mleka fermentowanego ma ogromny potencjał, ponieważ może zapewnić szereg korzyści zarówno konsumentom, jak i producentom. Błonnik pokarmowy oprócz poznanych korzyści fizjologicznych może zmniejszać ryzyko wystąpienia chorób cywilizacyjnych. Konsument oczekuje od współczesnej żywności prozdrowotnego działania, a świadomość konsumentcka zwiększa się dzięki coraz szerszemu asortymentowi i kampaniom reklamowym promującym żywność prozdrowotną, co także wykorzystują producenci żywności. Celem badań było określenie wpływu dodatku błonnika babki płesznik i aronii w połączeniu z kulturami probiotycznymi *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 i *Lacticaseibacillus casei* 431 na jakość mleka fermentowanego. W celu zbadania wpływu błonnika na jakość mleka fermentowanego dokonano oceny kwasowości, tekstury, synerезy i barwy, a także przeprowadzono ocenę organoleptyczną i analizę mikrobiologiczną.

Wyniki i wnioski. Do produkcji mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium* BB-12 i *L. casei* można zastosować naturalne dodatki takie jak błonnik aroniowy i błonnik babki płesznik. Błonnik babki płesznik można polecić ze względu na jego właściwości zmniejszające synerезę. Natomiast błonnik aroniowy ze względu na wysoką zawartość polifenoli może być stosowany jako naturalny barwnik i dodatek poprawiający smak. Dodatek błonnika, takiego jak aronia czy babka płesznik, pozytywnie stymulował wzrost i przeżywalność bakterii *Bifidobacterium* BB-12 i *L. casei* podczas przechowywania. Twardość żelu mlecznego fermentowanego przez *Bifidobacterium* BB-12 lub *L. casei* uległa znacznej poprawie poprzez dodatek błonnika babki płesznik, zwiększając ją aż o około 2,5 N i tendencja ta utrzymywała się również po 28 dniach przechowywania. Należy kontynuować badania nad wykorzystaniem różnych źródeł

blonnika w produkcji mleka fermentowanego w celu określenia ich potencjału prozdrowotnego i technologicznego.

Słowa kluczowe: mleko fermentowane, aronia, babka płesznik, błonnik, *Lactocaseibacillus casei*, *Bifidobacterium animalis* 

KAMILA POKORSKA-NIEWIADA, MILENA SADOWSKA, AGATA WITCZAK,
MAŁGORZATA SZCZUKO

PIERWIASTKI ŚLADOWE W PŁATKACH ŚNIADANIOWYCH - KORZYŚCI I ZAGROŻENIA ZWIĄZANE Z ICH KONSUMPCJĄ

Streszczenie

Wprowadzenie. Płatki śniadaniowe - wbrew swojej nazwie, są spożywane nie tylko na śniadania, ale również jako przekąski między posiłkami. Za głównych konsumentów płatków uznaje się dzieci, ale po tego typu produkty chętnie sięgają również osoby dorosłe. Tak duże zainteresowanie zbożowymi płatkami śniadaniowymi wynika m.in. z szerokiego asortymentu płatków, łatwości przygotowania, niskiej ceny, ale przede wszystkim z wysokiej zawartości składników odżywczych, w tym pierwiastków śladowych. Celem niniejszej pracy była analiza zawartości pierwiastków śladowych w płatkach śniadaniowych pod kątem korzyści i zagrożeń dla konsumentów. Materiał do badań stanowiło jedenaście rodzajów płatków śniadaniowych zakupionych w lokalnym handlu detalicznym. Analizy wykonano metodą ICP-AES (emisyjnej spektrometrii atomowej w plazmie indukcyjnie sprzężonej) oraz GF-AAS (absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną w kuwecie grafitowej).

Wyniki i wnioski. Przeprowadzona analiza wykazała, że średnia zawartość żelaza ze wszystkich analizowanych płatków wynosiła 62,8 mg/kg, a najbogatszym źródłem tego pierwiastka były płatki wielozbożowe. Największą ilością cynku, miedzi oraz manganu charakteryzowały się natomiast płatki owsiane. Zauważono również, że spożycie porcji płatków owsianych dostarcza 57 % dziennego zapotrzebowania na mangan dla mężczyzn oraz prawie 73 % dla kobiet. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono także, że spożywanie płatków śniadaniowych nie stwarza ryzyka zdrowotnego związanego z narażeniem konsumentów na niekorzystne oddziaływanie pierwiastków dostarczanych organizmowi wraz ze spożyciem tych produktów.

Słowa kluczowe: ICP-AES, GF-AAS, płatki śniadaniowe, mikroelementy, toksyczne pierwiastki śladowe

*Dr K. Pokorska-Niewiada ORCID: 0000-0002-4835-8517; mgr M. Sadowska; dr hab. A. Witczak ORCID: 0000-0002-7705-2138, Katedra Toksykologii, Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin; prof. dr hab. M. Szczuko ORCID: 0000-0002-7705-2138, Zakład Żywnienia Człowieka i Metabolomiki, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Rybacka 1, 70-204 Szczecin.
Kontakt: e-mail: Kamila.pokorska@zut.edu.pl*

Wprowadzenie

Płatki śniadaniowe należą do najpopularniejszych i najczęściej wybieranych produktów zbożowych na świecie, klasyfikowanych jako przetworzone produkty zbożowe [1,2]. Zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego [3] oznaczają żywność należącą do „prostych produktów zbożowych, które są lub muszą być przygotowane do spożycia poprzez dodanie mleka lub innych odpowiednio odżywczych płynów” lub „produktów zbożowych z dodatkiem składników wysokobiałkowych, które są lub muszą być przygotowane do spożycia poprzez dodanie wody lub innego płynu niezawierającego białka”.

Pierwiastki śladowe są niezbędne do przebiegu wielu różnych procesów biologicznych zachodzących we wszystkich organizmach żywych. Żelazo (Fe) odgrywa kluczową rolę w transporcie tlenu i elektronów, procesach metabolicznych i energetycznych, podziale i różnicowaniu komórek oraz w syntezie kwasu dezoksyrybonukleinowego [4]. Cynk (Zn) w organizmie człowieka stanowi składnik strukturalny, katalityczny i regulacyjny wielu procesów metabolicznych. Miedź (Cu) zapewnia prawidłowe funkcjonowanie układu nerwowego i aktywację neuropeptydów oraz jest niezbędna do syntezy i utrzymywania mieliny [5,6]. Z kolei mangan (Mn) umożliwia prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego, kostnego, syntezę hormonów steroidowych i neuroprzekaźników [5]. Te same pierwiastki mogą stać się jednak szkodliwe dla organizmu i powodować niekorzystne skutki zdrowotne, jeśli zgromadzą się w ilościach przekraczających ich dopuszczalne zawartości [7].

Obok pierwiastków niezbędnych w produktach spożywczych obecne są również pierwiastki, które w komórkach nie spełniają żadnej funkcji biologicznej i nawet w niskich stężeniach są wysoce toksyczne dla organizmu, m.in. kadm (Cd) i ołów (Pb) [8,9].

Biorąc pod uwagę popularność i częstość spożywania płatków śniadaniowych – szczególnie wśród dzieci, istotna z punktu widzenia żywieniowego wydaje się być analiza i ocena zawartości pierwiastków w tych produktach. Przeprowadzenie analizy umożliwia nie tylko oszacowanie pokrycia dziennego zapotrzebowania organizmu na dany mikroelement, ale także określenie ryzyka związanego z nadmierną podażą danego pierwiastka wraz z płatkami zbożowymi.

Material i metody badań

Material do badań stanowiło jedenaście rodzajów płatków śniadaniowych (A-K) zakupionych pięciokrotnie (płatki różniły się numerem partii) w lokalnym handlu detalicznym.

Tabela 1. Charakterystyka płatków zakupionych do badań
Table 1. Characteristics of flakes purchased for research

Rodzaj płatków / Type of flakes	Skład produktu deklarowany przez producenta / Product composition declared by the manufacturer	Grupa / Group
A	94% ziarno kukurydzy (bez GMO) / 94 % corn grain (non-GMO), cukier / sugar, sól / salt, emulgator: mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych / emulsifier: mono- and diglycerides of fatty acids, substancje wzbogacające (witaminy E, B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ i żelazo) / enriching substances (vitamins: E, B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ and iron).	kukurydziane / corn
B	grys kukurydziany / maize grits (99,9%), cukier / sugar, sól / salt, glukoza / glucose, cukier brązowy / brown sugar, syrop cukru inwertowanego / invert sugar syrup, melasa cukru trzcinowego / cane sugar molasses, regulator kwasowości (fosforany sodu) / acidity regulator (sodium phosphates), substancje wzbogacające (witaminy B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉) / enriching substances (vitamins B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉).	kukurydziane / corn
C	mąka pszenna pełnoziarnista / whole grain wheat flour (35%), czekolada w proszku / powdered chocolate (22,5%), cukier/ sugar, kakao/ cocoa (7,2%), mąka pszenna / wheat flour (17%), mąka kukurydziana / corn flour (15,2%), syrop glukozowy / glucose syrup, cukier / sugar, ekstrakt słodowy jęczmienny / barley malt extract , olej palmowy i/lub słonecznikowy / palm oil and/or sunflower oil, emulgator (lecycyny) / emulsifier (lecithins), sól/ salt, aromaty naturalne/ natural flavors, substancje wzbogacające (wapń, żelazo i witaminy: B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉) / enriching substances (calcium, iron and vitamins: B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉).	wielozbożowe / multi-cereal
D	mąka pszenna pełnoziarnista / whole grain wheat flour (37%), mąka ryżowa / rice flour (28,5%), cukier/sugar, olej palmowy / palm oil, syrop glukozowy / glucose syrup, skrobia kukurydziana/ corn starch, substancja wypełniająca (węglan wapnia) / filling substance (calcium carbonate), sól/salt, cynamon/ cinnamon (0,3%), emulgator (lecycyny)/ emulsifier (lecithins), przeciwutleniacz (mieszanina tokoferoli) / antioxidant (mixture of tocopherols), ekstrakt słodowy jęczmienny ciemny/ dark barley malt extract, aromat naturalny / natural flavor, barwnik (annato norbixyna) / colorant (annatto norbixin), substancje wzbogacające (żelazo i witaminy B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₂ , B ₁ , B ₉ , D) /enriching substances (iron and vitamins: B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ , D).	wielozbożowe / multi-cereal
E	mąka pszenna pełnoziarnista / whole grain wheat flour (34,6%), mąka kukurydziana / corn flour (28,3%), cukier / sugar, syrop glukozowy / glucose syrup, skrobia pszenna / wheat starch, olej palmowy / palm oil, mąka pszenna/ wheat flour (2,4%), kakao o obniżonej zawartości tłuszczu/ low-fat cocoa, sól/salt, substancja spulchniająca (wodorowęglan sodu) / raising agent (sodium bicarbonate), aromat naturalny / natural flavor, przeciwutleniacz (mieszanina tokoferoli) / antioxidant (mixture of tocopherols), substancje wzbogacające (wapń, żelazo i witaminy: B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ , D)/ enriching substances (calcium, iron and vitamins: B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ , D).	wielozbożowe / multi-cereal
F	mąka owsiana pełnoziarnista / whole wheat oat flour (27,2%), mąka pszenna pełnoziarnista / whole grain wheat flour (27,8%), cukier / sugar, mąka jęczmienna pełnoziarnista / whole wheat barley flour (16,8%), skrobia pszenna / wheat starch, miód / honey (3,5%), mąka kukurydziana pełnoziarnista / whole wheat corn flour 2%, mąka ryżowa pełnoziarnista / whole wheat rice flour 2%, syrop cukru inwertowanego / invert sugar syrup, sól / salt, olej słonecznikowy / sunflower oil, melasa / molasses, przeciwutleniacz (mieszanina tokoferoli) / antioxidant (mixture of tocopherols), aromat naturalny / natural aroma, substancje wzbogacające (wapń, żelazo i witaminy C, B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ , D) / enriching substances (calcium, iron and vitamins: C, B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉ , D).	wielozbożowe / multi-cereal
G	mąka pszenna pełnoziarnista/whole grain wheat flour (53,1%), cukier/sugar, mąka kukurydziana / corn flour (17,2%), syrop glukozowy / glucose syrup, kakao o obniżonej zawartości tłuszczu / low-fat cocoa (5,6%), substancja wzbogacająca (witaminy B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉) / enriching substances (vitamins B ₂ , B ₃ , B ₅ , B ₆ , B ₉).	wielozbożowe / multi-cereal

	gacająca (wapń, żelazo, witaminy: B ₃ , B ₅ , B ₂ , B ₆ , B ₁ , B ₉ , D) / enriching substance (calcium, iron, vitamins: B ₃ , B ₅ , B ₂ , B ₆ , B ₁ , B ₉ , D), zawiera olej słonecznikowy i/lub palmowy / contains sunflower oil and/or palm oil, sól / salt, aromaty naturalne / natural flavors..	
H	płatki owsiane błyskawiczne (100%) / instant oat flakes	owsiane / oatmeal
I	płatki owsiane górskie (100%) / mountain oat flakes	owsiane / oatmeal
J	płatki jęczmienne (100%) / barley flakes (100%)	jęczmienne / barley
K	płatki żytnie (100%) / rye flakes (100%)	żytnie / rye

Explanatory notes / objaśnienia:

Opracowanie własne na podstawie składu deklarowanego przez producentów / Own study based on the composition declared by producers.

Na podstawie składu zbóż deklarowanego przez producentów płatki podzielono na pięć grup: kukurydziane, owsiane, jęczmienne, żytnie oraz wielozbożowe (tab. 1). Z każdego opakowania do dalszych analiz pobierano 20 g, które rozdrabniano w młynku do kawy, w celu ujednoczenia próbki. Następnym krokiem było przygotowanie próbek (w trzech powtórzeniach) do mineralizacji. W tym celu naważano $0,5 \pm 0,001$ g płatków i dodawano 3 cm^3 stężonego kwasu azotowego (69 % Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy), a następnie próbki mineralizowano techniką mikrofalową w aparacie MDS-2000 (CEM Corp., Matthews, NC, USA). Po zakończonej mineralizacji i schłodzeniu prób, roztwór przenoszono ilościowo do uprzednio zważonych butelek polietylenowych i rozcieńczano za pomocą wody dejonizowanej ($0,05 \mu\text{S/cm}$ Barnstead™ GenPure™ Pro, Thermo Scientific, Hennigsdorf, Niemcy) do objętości 20 cm^3 . Otrzymane roztwory przetrzymywano w butelkach LDPE (Hünersdorff GmbH, Ludwigsburg, Niemcy) w temperaturze pokojowej do czasu wykonania analiz, nie dłużej niż 24 h.

Zawartość Fe, Zn, Cu i Mn oznaczono metodą emisyjnej spektrometrii atomowej w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-AES) w aparacie Yobin Yvon JY-24 zaopatrzonej w nebulizer Meinhard TR 50-C. Pierwiastki oznaczono przy długości fali (nm): Cu - 237,4; Fe - 238,2; Mn - 257,6; Zn - 213,9.

Kadm i ołów oznaczono metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną w kuwecie grafitowej z korekcją tła Zeemana (GF-AAS) w aparacie Perkin Elmer ZL 4110. Kadm oznaczono przy dł. fali 228,8 nm, a ołów – 283,3 nm. Wzorce kalibracyjne do oznaczeń przygotowano poprzez rozcieńczenie objętościowe jednoelementowego wzorca kalibracyjnego wyżej wymienionych pierwiastków w kolbach miarowych z użyciem 0,2-procentowego HNO_3 (Cd, Pb) lub 15-procentowego HNO_3 (Fe, Zn, Cu, Mn).

W celu określenia granic wykrywalności (LOD) oznaczono zawartość pierwiastków w roztworach zerowych (zawierających jedynie kwas azotowy i wodę dejonizowaną). LOD i LOQ analizowanych pierwiastków śladowych obliczono z odchyłań standardowych (SD) dziesięciu pomiarów próbek zerowych (równanie 1) [10].

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD} \qquad \text{LOQ} = 10 \times \text{SD} \qquad [1]$$

Jakość oznaczeń weryfikowano (co dwanaście próbek) na podstawie wartości współczynników kalibracyjnych. Przyjęto granicę wartości współczynnika kalibracji $\geq 0,995$. Precyzja zastosowanej procedury analitycznej została zweryfikowana na certyfikowanym materiale odniesienia INCT – MPH-2 (ICHTJ, Polska) (tab. 2).

Tabela 2. Wartości granicy wykrywalności (LOD), oznaczalności (LOQ) oraz weryfikacja precyzji zastosowanej procedury analitycznej

Table 2. Values of the limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) and verification of the precision of the applied analytical procedure

Pierwiastek/Element	LOD [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	LOQ [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Odzysk [%]	CV [%]
żelazo/ iron	1,2	4,0	96,6	4,3
cynk/ zinc	3,1	10,3	97,9	4,6
miedź/copper	2,9	9,7	98,0	3,7
mangan/manganese	0,8	2,6	98,3	3,8
kadm/ cadmium	0,1	0,4	98,1	3,0
ołów/ lead	1,3	4,3	99,1	2,5

Explanatory notes / objaśnienia:

CV – współczynnik zmienności / coefficient of variation

Stopień pokrycia zalecanego dziennego pobrania (RDA - Recommended Dietary Allowances) Fe, Zn, Cu i Mn wraz ze spożyciem płatków śniadaniowych określano w oparciu o polskie normy [5]. Założono, że konsument spożywa dziennie rekomendowaną przez producentów płatków śniadaniowych porcję wynoszącą 30 gram.

Ocenę ryzyka zdrowotnego wynikającego z narażenia konsumentów na pierwiastki dostarczane organizmowi wraz ze zbożowymi płatkami śniadaniowymi określono na podstawie następujących parametrów:

a) Szacowane dzienne spożycie (EDI – Estimation of daily intake) (równanie 2)

$$\text{EDI} = \frac{\text{MS} \times \text{C}}{\text{MC}} \left[\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ masy ciała/dzień} \right] \qquad [2]$$

MS – średnie dzienne spożycia płatków śniadaniowych – 5,3 g/dzień [11]; C – zawartość pierwiastka w analizowanych płatkach śniadaniowych (mg/kg); MC – średnia masa ciała osoby dziecka (30 kg), osoby dorosłej (70 kg).

b) Tymczasowe tolerowane tygodniowe spożycie (PTWI – Provisional Tolerable Weekly Intake) (równanie 3)

$$\text{PTWI} = \text{PTWI}' (\text{wyznaczone dla danego pierwiastka}) \times \text{MC} \qquad [3]$$

PTWI – dla Pb wynosi 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$; dla Cd – 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [12]; MC – średnia masa dziecka (30 kg), osoby dorosłej (70 kg).

c) Docelowy współczynnik ryzyka (THQ – Target Hazard Quotient) (równanie 4)

$$\text{THQ} = \frac{\text{EF} \times \text{ED} \times \text{MS} \times \text{C}}{\text{RfD} \times \text{MC} \times \text{AT}} \times 10^{-3} \quad [4]$$

EF – częstotliwość narażenia na pierwiastek (365 dni/rok); ED – czas trwania ekspozycji (70 lat); MS – średnie dzienne spożycie płatków śniadaniowych – 5,3 g/dzień [11]; C – zawartość pierwiastka w analizowanych płatkach śniadaniowych (mg/kg); RfD – doustna dawka referencyjna pierwiastka (m/kg mc/dzień) – Fe = 0,7; Zn = 0,3; Cu = 0,04; Mn = 0,14; Cd = 0,001; Pb = 0,004 [12]; MC – średnia masa ciała dziecka (30 kg), osoby dorosłej (70 kg); AT – uśredniony czas ekspozycji na nierakotwórczy pierwiastek (365 dni x 70 lat).

d) Wskaźnik ryzyka (HI – Hazard Index) (równanie 5)

$$\text{HI} = \sum_{i=0}^n \text{THQ} \quad [5]$$

THQ – Docelowy współczynnik ryzyka obliczony według równania 4.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica 13.3 (Statsoft, Kraków, Poland) i przedstawiono je jako średnie arytmetyczne z odchyleniami standardowymi (SD) oraz wartościami minimalnymi i maksymalnymi. Do przetestowania korelacji między zmiennymi wykorzystano korelację Pearsona. Istotność różnic sprawdzono za pomocą testu post-hoc Tukeya ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona analiza wykazała, że badane płatki zbożowe różnią się między sobą zawartością oznaczanych pierwiastków śladowych (tab. 3, rys. 1A, rys. 1B). Najwyższą średnią zawartość żelaza stwierdzono w płatkach wielozbożowych (rys. 1A), przy czym wszystkie płatki różniły się statystycznie między sobą ($p < 0,05$) pod tym względem. Zbliżone wartości deklarowali producenci tych płatków (93,6 mg/kg), zaś według włoskiej Bazy Danych Składu Żywności (BDA) średnia zawartość żelaza w płatkach wielozbożowych jest zdecydowanie niższa (28 mg/kg) [13].

W płatkach kukurydzianych stwierdzono średnio 50,5 mg/kg żelaza, co jest wynikiem wzbogacenia ich składu w ten pierwiastek. Podobne stwierdzili Perera i wsp. [14]. Kunachowicz i wsp. [15] wskazali znacznie niższe ilości (8 mg/kg). W płatkach owsianych stwierdzono średnio 35,1 mg/kg żelaza, podobne wyniki uzyskali też Berski i wsp. [16]. Inni autorzy stwierdzili nieco wyższe wartości tego pierwiastka [1, 15, 17,18]. Według Kunachowicz i wsp. [15] zawartość żelaza w płatkach jęczmiennych

i żytnich była znacznie wyższa i wynosiła odpowiednio 36 mg/kg oraz 27 mg/kg tego pierwiastka.

Tabela 3. Zakres minimalnej i maksymalnej zawartości pierwiastków w płatkach śniadaniowych [mg/kg]

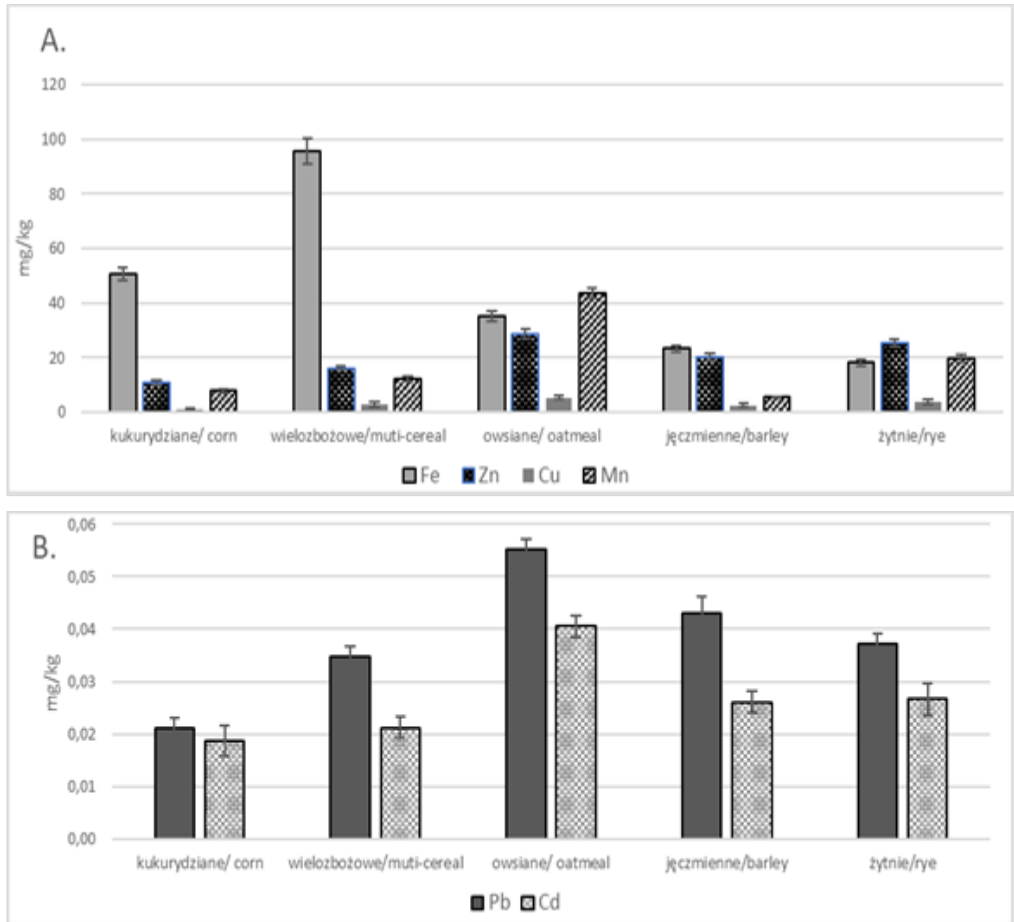
Table 3. Range of minimum and maximum element content of breakfast cereals [mg/kg]

Rodzaj płatków / Type of flakes	żelazo / iron	cynek / zinc	miedź / copper	mangan / manganese	kadm / ca- dmium	ołów / lead
	zakres / range: min-max [mg/kg]					
A	91,0 ÷ 103,5	17,13 ÷ 20,45	1,82 ÷ 2,12	12,82 ÷ 16,93	0,017 ÷ 0,030	0,016 ÷ 0,034
B	6,1 ÷ 8,0	1,96 ÷ 2,80	0,35 - 0,56	0,40 ÷ 0,60	0,007 ÷ 0,022	0,006 ÷ 0,030
C	104,1 ÷ 116,2	17,41 ÷ 19,27	3,51 - 3,88	14,82 ÷ 16,82	0,011 ÷ 0,027	0,019 ÷ 0,040
D	64,6 ÷ 73,3	12,05 ÷ 14,01	1,92 - 2,24	9,18 ÷ 12,85	0,017 ÷ 0,026	0,014 ÷ 0,039
E	71,2 ÷ 77,7	13,96 ÷ 16,12	3,02 - 3,28	10,06 ÷ 12,43	0,017 ÷ 0,026	0,027 ÷ 0,048
F	115,9 ÷ 128,4	18,83 ÷ 23,07	2,47 - 2,93	10,23 ÷ 12,64	0,012 ÷ 0,035	0,033 ÷ 0,062
G	101,4 ÷ 109,1	12,36 ÷ 16,17	3,23 ÷ 3,62	10,25 ÷ 14,06	0,017 ÷ 0,026	0,020 ÷ 0,039
H	30,2 ÷ 37,0	26,10 ÷ 29,18	4,99 ÷ 5,91	41,27 ÷ 45,12	0,028 ÷ 0,043	0,046 ÷ 0,067
I	34,0 ÷ 41,8	28,00 ÷ 31,14	5,14 ÷ 6,01	41,37 ÷ 47,01	0,038 ÷ 0,052	0,047 ÷ 0,066
J	20,0 ÷ 28,2	19,71 ÷ 21,64	2,42 ÷ 2,69	5,01 ÷ 6,10	0,020 ÷ 0,030	0,027 ÷ 0,061
K	14,2 ÷ 22,0	24,07 ÷ 26,73	3,00 ÷ 4,26	17,62 ÷ 20,88	0,018 ÷ 0,033	0,027 ÷ 0,044

Explanatory notes / objaśnienia:

A – płatki kukurydziane z witaminami i żelazem/ corn flakes with vitamins and iron; B – płatki kukurydziane / corn flakes; C – płatki wielozbożowe: muszelki czekoladowe / multi-cereal flakes: chocolate shells; D – płatki wielozbożowe: cynamonowe / multi-cereal flakes: cinnamon; E – płatki wielozbożowe: miasteczkowe / multi-cereal flakes: cookies; F – płatki wielozbożowe: miodowe / multi-cereal flakes: honey; G – płatki wielozbożowe: kuleczki czekoladowe / multi-cereal flakes: chocolate balls; H – płatki owsiane błyskawiczne/ instant oatmeal; I – płatki owsiane górskie / mountain oat flakes; J – płatki jęczmienne / barley flakes; K – płatki żytnie / rye flakes.

Badane rodzaje płatków różniły się istotnie ($p < 0,05$) między sobą pod względem zawartości cynku (rys. 1A). Średnia zawartość cynku ze wszystkich rodzajów płatków wynosiła 18,63 mg/kg i była zbliżona do badań innych autorów [19, 20]. W analizowanych płatkach owsianych ilość cynku była porównywalna do badań innych autorów [1, 15, 18, 20]. Niższe ilości zaobserwowali natomiast Berski i wsp. [16] oraz Kot i wsp. [6] - odpowiednio 25,46 mg/kg oraz 24,91 mg/kg tego pierwiastka, natomiast blisko dziesięciokrotnie mniej stwierdzili Filipiak-Florkiewicz i wsp. [21]. Średnia zawartość cynku w płatkach żytnich wynosiła 25,24 mg/kg, co stanowiło wartość porównywalną do ilości podawanej przez wielu autorów [15, 20]. Według innych autorów zawartość tego pierwiastka w płatkach żytnich była znacznie niższa [1, 21].



Rys. 1. Porównanie średniej zawartości analizowanych pierwiastków w różnych rodzajach analizowanych płatków śniadaniowych. A – mikroelementy B – toksyczne pierwiastki śladowe. (odchylenie standardowe: kukurydziane Fe = 2,38; Zn = 0,99; Cu = 0,46; Mn = 0,81; Pb = 0,002; Cd = 0,003; wielozbożowe Fe = 4,86; Zn = 0,83; Cu = 0,91; Mn = 1,0; Pb = 0,002; Cd = 0,002; owsiane Fe = 1,83; Zn = 1,75; Cu = 0,85; Mn = 2,0; Pb = 0,002; Cd = 0,002 ; jęczmienne Fe = 1,0; Zn = 1,59; Cu = 0,83; Mn = 0,38; Pb = 0,003; Cd = 0,002; żytnie Fe = 0,98; Zn = 1,28; Cu = 0,85; Mn = 1,32; Pb = 0,002; Cd = 0,003).

Fig.1. Comparison of the average content of the analyzed elements in different types of the analyzed breakfast flakes. A – microelements, B – toxic trace elements. (standard deviation: corn: Fe= 2.38; Zn = 0.99; Cu = 0.46; Mn = 0.81; Pb = 0.002; Cd = 0.003; multi-cereal Fe = 4.86; Zn = 0.83; Cu = 0.91; Mn = 1.0; Pb = 0.002; Cd = 0.002; oatmeal Fe = 1.83; Zn = 1.75; Cu = 0.85; Mn = 2.0; Pb = 0.002; Cd = 0.002; barley Fe = 1.0; Zn = 1.59; Cu = 0.83; Mn = 0.38; Pb = 0.003; Cd = 0.002; rye Fe = 0.98; Zn = 1.28; Cu = 0.85; Mn = 1.32; Pb = 0.002; Cd = 0.003).

Analizowane grupy płatków różniły się statystycznie ($p < 0,05$) między sobą pod względem zawartości miedzi (rys. 1A). Najwyższą zawartością miedzi charakteryzowały się płatki owsiane, w których stwierdzono porównywalną ilość jak w badaniach Kunachowicz i wsp. [15]. Wielu autorów stwierdziło znacznie niższe zawartości miedzi, m.in. Kot i wsp. [6] 2,9 mg/kg; Berski i wsp. [16] 3,04 mg/kg i Achremowicz i wsp. [18] 3,17 mg/kg. W płatkach żytnich stwierdzona średnia zawartość miedzi 3,72 mg/kg była wyższa od ilości deklarowanej przez innych badaczy [1, 15]. Płatki wielozbożowe zawierały porównywalne ilości miedzi do deklarowanych przez bazy danych o składzie żywności do badań epidemiologicznych we Włoszech (BDA) [13] – 2,6 mg/kg, a także prawie o 36 % wyższa, niż poziom oznaczony w badaniu Kot i wsp. [6] – 1,86 mg/kg.

Średnia zawartość manganu w analizowanych płatkach wynosiła 17,22 mg/kg, co stanowiło wartość nieco niższą od oznaczonej przez Winiarską-Mieczan i wsp. (21,38 mg/kg) [19]. Najwyższą zawartością tego pierwiastka charakteryzowały się płatki owsiane – 43,70 mg/kg (rys. 1A). Zbliżony poziom stwierdzili m.in. Kunachowicz i wsp. [15] – 41,9 mg/kg, Achremowicz i wsp. [1] – 41,22 mg/kg oraz Berski i wsp. [16] – 38,5 mg/kg. Podobnie, wielu badaczy zaobserwowało wyższe stężenia manganu [15, 17]. Ponadto wykazano, że płatki kukurydziane zawierały 7,84 mg/kg manganu, co stanowiło dziesięciokrotnie wyższą ilość od deklarowanej przez Kunachowicz i wsp. [15].

Przeprowadzono również analizę zawartości w płatkach pierwiastków szkodliwych. Maksymalną zawartością kadmu charakteryzowały się płatki owsiane górskie – I, w których oznaczono 0,052 mg/kg tego pierwiastka (tab.3). Oznaczone ilości kadmu nie przekraczały jednak maksymalnie dopuszczalnych poziomów tego pierwiastka [22]. Oznaczona zawartość kadmu w płatkach owsianych (rys. 1B) była porównywalna do ilości oznaczonych przez Achremowicza i wsp. [18] – 0,039 mg/kg. Inni autorzy stwierdzili nieco niższe ilości, odpowiednio 0,03 mg/kg [1]; 0,027 mg/kg [7] i 0,024 mg/kg [23]. Średnia zawartość kadmu w płatkach kukurydzianych wynosiła 0,019 mg/kg i była wyższa niż w ilości stwierdzanej w badaniach Orzeł i Styczyńskiej [9] – 0,009 mg/kg oraz Siebielec i Siebielca [7] – 0,001 mg/kg. Znacznie wyższą zawartość kadmu w płatkach kukurydzianych stwierdzili natomiast Fiłon i wsp. [24], która wynosiła 0,035 mg/kg. Stwierdzone ilości kadmu w płatkach owsianych (0,041 mg/kg) były znacznie niższe od ilości stwierdzonych przez wielu autorów [1, 7, 8, 16], u których ilość kadmu wahała się w przedziale $0,053 \div 0,070$ mg/kg. Odnosząc się do zawartości kadmu w płatkach wielozbożowych (0,021 mg/kg) stwierdzono, że oznaczone ilości były nieznacznie wyższe od poziomów podawanych przez innych autorów [7] – 0,019 mg/kg.

Badając zawartość ołowiu wykazano, że maksymalne ilości tego pierwiastka występowały w płatkach owsianych błyskawicznych – H (tab. 3), ale różnice statystycznie

istotne ($p < 0,05$) występowały jedynie pomiędzy płatkami owsianymi a kukurydzianymi (rys. 1B). Podobnie jak przy oznaczeniu ilości kadmu, oznaczone zawartości ołowiu nie przekraczały maksymalnie dopuszczalnych poziomów tego pierwiastka w zbożach określonych w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego [22]. Średnia zawartość ołowiu w analizowanych płatkach wielozbożowych wynosiła 0,035 mg/kg i była prawie trzykrotnie wyższa od oznaczonej przez Siebielec i Siebielca [7]. Analizowane płatki kukurydziane zawierały 0,021 mg/kg ołowiu. Znacznie niższe ilości stwierdzili Siebielec i Siebielec [7] – 0,002 mg/kg, natomiast inni autorzy zaobserwowali wartości wyższe, odpowiednio 0,131 mg/kg [23] oraz – 0,300 mg/kg [8] ołowiu w płatkach.

Pojawiające się rozbieżności dotyczące zawartości pierwiastków w płatkach śniadaniowych, pomiędzy wynikami uzyskanymi w niniejszej analizie a wynikami innych autorów, wynikają z kilku przyczyn. Jednym z powodów jest porównywanie badań przeprowadzanych na płatkach śniadaniowych wytwarzanych z różnych ziaren zbóż. W skład porównywanych płatków wielozbożowych wchodziły różne rodzaje zbóż w odmiennych proporcjach, co przełożyło się na znaczne zróżnicowanie w poziomach składników mineralnych. Wiąże się to również z odmiennymi warunkami uprawy, wymaganiami i sposobem nawożenia gleby oraz ewentualnym stosowaniem preparatów wzbogacających w składniki mineralne.

Ponadto, ze względu na powszechnie występujące w diecie niedobory witamin i składników mineralnych, wśród których najczęściej obserwowany jest zbyt niski poziom żelaza, producenci dążą do zmniejszenia deficytów oraz zwiększenia podaży tego pierwiastka wraz z dietą. Wobec powyższego, firmy często wzbogacają swoje produkty w żelazo oraz inne składniki mineralne [4]. Wyjaśnia to znaczne rozbieżności w ilościach żelaza w płatkach śniadaniowych, szczególnie w wielozbożowych oraz kukurydzianych, które były fortyfikowane w różnym stopniu. Z kolei różnice w zawartości kadmu i ołowiu w płatkach śniadaniowych prawdopodobnie wynikały z porównywania produktów wytwarzanych ze zbóż z obszarów o zróżnicowanym stopniu uprzemysłowienia [25].

W celu określenia wartości dziennego zapotrzebowania na poszczególne pierwiastki, odniesiono się do norm żywienia dla populacji Polski [5]. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że konsumpcja 1 porcji płatków kukurydzianych pokrywa około $\frac{1}{5}$ rekomendowanego spożycia żelaza oraz manganu wśród dzieci w wieku 1 ÷ 3 lata (tab. 4). Wykazano również, że płatki kukurydziane tylko w niewielkim stopniu pokrywają dzienne zapotrzebowanie na cynk oraz miedź we wszystkich analizowanych grupach wiekowych (tab. 4).

Tabela 4. Pokrycie zalecanego dziennego spożycia pierwiastków (mg/dobę) wraz z porcją (30 g) analizowanych płatków
 Table 4. The coverage of the recommended daily intake of elements (mg/day) with a portion (30 g) of the analyzed cereals

Pierwiastek Element	Rodzaj płatków Type of flakes	dzieci/children			chłopcy/boys		dziewczęta / girls		mężczyźni / men	kobiety / women
		1 ÷ 3 lata / years	4 ÷ 6 lat / years	7 ÷ 9 lat / years	10 ÷ 12 lat / years	13 ÷ 18 lat / years	10 ÷ 12 lat / years	13 ÷ 18 lat / years		
Fe mg/24 h	kukurydziane / corn	21,6	15,1	15,1	15,1	12,6	15,1	15,1	15,1	8,4
	wielozbożowe / multi-cereal	41,0	28,7	28,7	28,7	23,9	28,7	19,1	28,7	15,9
	owsiane / oatmeal	15,0	10,5	10,5	10,5	8,8	10,5	7,0	10,5	5,8
	jęczmienne / barley	10,0	7,0	7,0	6,7	5,8	7,0	4,7	7,0	3,9
	żytnie / rye	7,8	5,4	5,4	5,4	4,5	5,4	3,6	5,4	3,0
Zn mg/24 h	kukurydziane / corn	10,7	6,4	6,4	4,0	2,9	4,0	3,6	2,9	4,0
	wielozbożowe / multi-cereal	16,2	9,7	9,7	6,1	4,4	6,1	5,4	4,4	6,1
	owsiane / oatmeal	28,7	17,2	17,2	10,8	7,8	10,8	9,6	7,8	10,8
	jęczmienne / barley	20,2	12,1	12,1	7,6	5,5	7,6	6,7	5,5	7,6
	żytnie / rye	25,2	15,1	15,1	9,5	6,9	9,5	8,4	6,9	9,5
Cu mg/24 h	kukurydziane / corn	12,1	9,1	5,2	5,2	4,0	5,2	4,0	4,0	4,0
	wielozbożowe / multi-cereal	30,0	22,5	12,9	12,9	10,0	12,9	10,0	10,0	10,0
	owsiane / oatmeal	54,3	40,7	23,3	23,3	18,1	23,3	18,1	18,1	18,1
	jęczmienne / barley	25,5	19,1	10,9	10,9	8,5	10,9	8,5	8,5	8,5
	żytnie / rye	37,2	27,9	15,9	15,9	12,4	15,9	12,4	12,4	12,4
Mn mg/24 h	kukurydziane / corn	19,6	15,7	15,7	12,4	10,7	14,7	14,7	10,2	13,1
	wielozbożowe / multi-cereal	30,6	24,5	24,5	19,3	16,7	22,9	22,9	16,0	20,4
	owsiane / oatmeal	109,2	87,4	87,4	69,0	59,6	81,9	81,9	57,0	72,8
	jęczmienne / barley	13,7	11,0	11,0	8,7	7,5	10,3	10,3	7,2	9,2
	żytnie / rye	49,1	39,3	39,3	31,0	26,8	36,8	36,8	25,6	32,7

Jednorazowe spożycie płatków wielozbożowych dostarcza również około $\frac{1}{4}$ zalecanego dziennego spożycia żelaza wśród większości populacji polskiej (tab. 4), natomiast konsumpcja płatków owsianych w znacznym stopniu pokrywa dzienne zapotrzebowanie na mangan we wszystkich grupach wiekowych. U dzieci w wieku od 4 do 9 lat płatki owsiane mogą pokryć blisko w 90 % zalecane dzienne spożycie Mn, natomiast wśród dzieci w wieku 1 ÷ 3 lata rekomendowana dawka jest nawet nieznacznie przekroczona (tab. 4). Należy jednak mieć na uwadze, że ten rodzaj płatków nie jest zbyt często spożywany przez dzieci.

Płatki jęczmienne dostarczają niewielkie ilości mikroelementów. Spożycie jednej porcji tych płatków może zaspokoić w $\frac{1}{5}$ rekomendowaną ilość cynku oraz w $\frac{1}{4}$ zalecaną dzienną porcję miedzi wśród dzieci w wieku od 1 do 3 lat (tab. 4). Spożywanie płatków żytnich pokrywa $\frac{1}{4}$ dziennego zapotrzebowania na mangan wśród mężczyzn oraz chłopców w wieku od 13 do 18 lat (tab. 4).

Określono ryzyko zdrowotne wynikające z narażenia konsumentów na pierwiastki dostarczane organizmowi codziennie (EDI) wraz z płatkami śniadaniowymi (tab. 5). Stwierdzono, że największe ilości żelaza – zarówno wśród dzieci, jak i osób dorosłych – są pobierane wraz ze spożyciem płatków wielozbożowych, natomiast największe ilości cynku oraz manganu - płatków owsianych (tab. 5). Szacuje się również, że w ujęciu ogólnym najwięcej mikroelementów dostarcza spożycie płatków wielozbożowych, natomiast najmniej – konsumpcja płatków jęczmiennych. W odniesieniu do pierwiastków szkodliwych dla zdrowia oszacowano, że największe pobranie kadmu i ołowiu u dzieci następuje wraz ze spożyciem płatków owsianych. U osób dorosłych to ryzyko jest mniejsze (tab. 5).

W celu określenia ryzyka zdrowotnego związanego z pobraniem wraz z porcją płatków śniadaniowych pierwiastków szkodliwych odniesiono się do współczynnika PTWI. Wykazano, że oszacowane ilości tygodniowego spożycia są wielokrotnie niższe od wartości tymczasowo tolerowanych (tab. 5).

Parametry te określają możliwość wystąpienia niepożądanego działania zdrowotnego, innego niż rakotwórczy, w wyniku długoterminowego narażenia na dany czynnik toksyczny (THQ) [26] lub wynikającego z łącznego narażenia na działanie wielu substancji potencjalnie szkodliwych (HI) [27].

Uzyskane wielkości współczynników przyrównuje się do wartości krytycznej = 1. I, gdy parametr THQ jest mniejszy lub równy liczbie krytycznej ($THQ \leq 1$) można wnioskować, że dzienna ekspozycja na tym poziomie nie wywoła negatywnych skutków zdrowotnych [26], natomiast dla $HQ < 1$ prawdopodobieństwo wystąpienia działań niepożądanych nie jest większe niż podczas narażenia na każdą substancję oddzielnie [27]. Jeśli natomiast wartość współczynników jest większa lub równa liczbie

Tabela 5. Dzielne pobranie pierwiastków śladowych (EDI) oraz tymczasowe tolerowane tygodniowe pobranie (PTWI) ołowiu oraz kadmu wraz z 30 g porcją płatków śniadaniowych

Table 5. Daily trace element intake (EDI) and Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) of lead and cadmium with a 30 g portion of breakfast cereal

Grupa wiekowa / Age group	Rodzaj płatków / Type of flakes	EDI [mg/kg masy ciała dzień] / [mg/kg body weight day]						Szacowane tygodniowe spożycie / Estimated weekly intake	PTWI	Szacowane tygodniowe spożycie / Estimated weekly intake	PTWI
		Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd	Pb [mg/kg masy ciała/ body weight]	Cd [mg/ kg masy ciała/ body-weight]		
dziecko / infant	kukurydziane / corn	8,9	1,9	0,2	1,4	0,004	0,003	0,026	0,75	0,023	0,21
	wielozbożowe / multi-cereal	16,9	2,9	0,5	2,2	0,006	0,004	0,043		0,026	
	owsiane / oatmeal	6,2	5,1	1,0	7,7	0,010	0,007	0,068		0,050	
	jęczmienne / barley	4,1	3,6	0,5	1,0	0,008	0,005	0,053		0,032	
	żytnie / rye	3,2	4,5	0,7	3,5	0,007	0,005	0,046		0,033	
osoba dorosła / adult	kukurydziane / corn	3,8	0,8	0,1	0,6	0,002	0,001	0,011	1,75	0,010	0,49
	wielozbożowe / multi-cereal	7,2	1,2	0,2	0,9	0,003	0,002	0,018		0,011	
	owsiane / oatmeal	2,6	2,2	0,4	3,3	0,004	0,003	0,029		0,022	
	jęczmienne / barley	1,8	1,5	0,2	0,4	0,003	0,002	0,023		0,014	
	żytnie / rye	1,4	1,9	0,3	1,5	0,003	0,002	0,020		0,014	

Explanatory notes / objaśnienia:

EDI – Szacowane dziennie spożycie / Estimation of daily intake; PTWI – Tymczasowe tolerowane tygodniowe spożycie / Provisional Tolerable Weekly Intake

Tabela 6. Szacowane wartości docelowego współczynnika ryzyka – THQ oraz HI

Table 6. Estimated Target Risk Factor – THQ and HI

Grupa wiekowa / Age group	Rodzaj płatków / Type of flakes	Docelowy współczynnik ryzyka / Target Hazard Quotient (THQ)						HI
		Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd	
Dzieci / infant	kukurydziane / corn	0,013	0,0063	0,0053	0,0099	0,0009	0,0033	0,038
	wielozbożowe / multi-cereal	0,024	0,0095	0,0132	0,0154	0,0015	0,0037	0,067
	owsiane / oatmeal	0,009	0,0169	0,0240	0,0551	0,0024	0,0072	0,114
	jęczmienne / barley	0,006	0,0119	0,0112	0,0069	0,0019	0,0046	0,042
	żytnie / rye	0,005	0,0149	0,0164	0,0248	0,0016	0,0047	0,067
Osoby dorosłe / adult	kukurydziane /corn	0,006	0,0027	0,0023	0,0042	0,0004	0,0014	0,017
	wielozbożowe / multicereal	0,010	0,0041	0,0057	0,0066	0,0007	0,0016	0,029
	owsiane / oatmeal	0,004	0,0072	0,0103	0,0236	0,0010	0,0031	0,049
	jęczmienne / barley	0,003	0,0051	0,0048	0,0030	0,0008	0,0020	0,018
	żytnie / rye	0,002	0,0064	0,0070	0,0106	0,0007	0,0020	0,029

Explanatory notes / objaśnienia:

HI – Wskaźnik ryzyka / Hazard index Porównując uzyskane wyniki do liczby krytycznej spostrzeżono, że wszystkie oszacowane wartości – zarówno parametru THQ, jak i HI, były znacząco niższe od wartości granicznej (THQ < 1, HI < 1) (tab. 6). Oznacza to, że spożycie płatków śniadaniowych nie stwarza ryzyka zdrowotnego związanego z narażeniem konsumentów na negatywne oddziaływanie pierwiastków wprowadzanych do organizmu wraz z konsumpcją tych płatków.

krytycznej ($THQ \geq 1$, $HQ > 1$), można zakładać, że w wyniku narażenia na dany czynnik toksyczny istnieje potencjalne zagrożenie dla zdrowia [26, 27]. W pracy określono również współczynniki ryzyka – THQ oraz HI (tab. 6).

Wnioski

1. Płatki śniadaniowe stanowią dobre, ale zróżnicowane źródło pierwiastków śladowych. Różnice w ich zawartości można wyjaśnić m.in. różnorodnością wykorzystanych zbóż. Stwierdzono, że płatki wielozbożowe stanowią najlepsze źródło żelaza, zaś płatki owsiane są cennym źródłem cynku, miedzi oraz manganu.
2. Spożycie 30 g porcji płatków wielozbożowych oraz kukurydzianych przez dzieci pokrywa odpowiednio prawie w 29 % oraz w nieco ponad 15 % zalecane dzienne spożycie żelaza wśród dzieci w wieku od 4 do 12 lat. Porcja płatków owsianych dostarcza natomiast ponad 87 % dziennego zapotrzebowania na mangan wśród dzieci w wieku od 4 do 9 lat. Należy jednak zaznaczyć, że dzieci preferują smakowe płatki wielozbożowe oraz kukurydziane i niezbyt często spożywają pozostałe rodzaje płatków.
3. Spożycie porcji płatków owsianych dostarcza 57 % dziennego zapotrzebowania na mangan dla mężczyzn oraz blisko 73 % – dla kobiet, natomiast spożycie płatków wielozbożowych dostarcza nieco ponad 28 % dziennego zapotrzebowania na żelazo dla mężczyzn oraz kobiet po 50 r.ż.
4. Poza źródłem cennych składników mineralnych, płatki owsiane zawierają też największe stężenia szkodliwych pierwiastków, takich jak kadm i ołów. Szacowane wartości podaży tych pierwiastków wraz ze spożyciem płatków śniadaniowych nie przekraczają jednak poziomów tymczasowego tolerowanego tygodniowego spożycia, co oznacza, że nie występuje ryzyko narażenia zdrowotnego na negatywne oddziaływanie tych metali.
5. Oszacowane wielkości współczynników ryzyka THQ oraz HI były znacząco niższe od wartości krytycznej (THQ , $HI < 1$), co oznacza, że spożycie płatków śniadaniowych nie stwarza ryzyka zdrowotnego związanego z narażeniem konsumentów na niekorzystne oddziaływanie pierwiastków dostarczanych organizmowi wraz z płatkami zbożowymi.

Praca została wykonana w ramach badań monitoringowych żywności prowadzonych w Katedrze Toksykologii, Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, ZUT w Szczecinie.

Literatura

- [1] Achremowicz B., Haber T., Kaszuba J., Puchalski C., Wiśniewski R.: Płatki zbożowe – ocena porównawcza. Część I. Porównanie składu chemicznego i mineralnego. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego 2016, 2, 97-101.
- [2] Rusu I., Kehoe L., Buffini M., Kearney J., McNulty B.A., Flynn A., Walton J.: The role of breakfast in the diets of school-aged children (5-12Y) in Ireland. Proc. Nutr. Soc., 2021, 80 (OCE1), E38.
- [3] Ustawa z dnia 12 czerwca 2009 roku o żywności przeznaczonej dla niemowląt i małych dzieci oraz żywności specjalnego przeznaczenia medycznego i środków spożywczych zastępujących całodzienną dietę, do kontroli masy ciała oraz uchylające dyrektywę Rady 92/52/EWG, dyrektywy Komisji 96/8/WE, 1999/21/WE, 2006/125/WE i 2006/141/WE, dyrektywę Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/39/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 41/2009 i (WE) nr 953/2009. Dz. U.UE 2013 nr 609.
- [4] Żuk E., Skrypnik K., Suliburska J.: Analiza wybranych grup produktów spożywczych wzbogaconych w żelazo. Forum Zaburzeń Metabolicznych, 2018, 9(3), 103-111.
- [5] Jarosz M., Rychlik E., Stoś K., Charzewska J.: Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, Państwowy Zakład Higieny, 2020, 273–292.
- [6] Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L.: Ocena zawartości miedzi i cynku w wybranych produktach zbożowych. Brom. Chem. Toksykol., 2011, 44(1), 32-37.
- [7] Siebielec S., Siebielec G.: Zawartość kadmu i ołowiu w pieczywie i produktach zbożowych. Dokonania Naukowe Młodych Naukowców, 2016, 119-130.
- [8] Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L.: Ocena skażenia ołowiem zbóż, przetworów zbożowych i ziemniaków z regionu lubelskiego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, 4(65), 86-91.
- [9] Orzeł D., Styczyńska M.: Ocena zawartości ołowiu i kadmu w płatkach śniadaniowych dostępnych w handlu. Brom. Chem. Toksykol., 2008, 41(1), 41-45.
- [10] Pawełczyk J., Zając M.: Walidacja metod analizy chemicznej. Przykład walidacji metod. Wydawnictwo UM Poznań 2005, ss.156.
- [11] Główny Urząd Statystyczny. Budżety gospodarstw domowych. 2021. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/warunki-zycia/dochody-wydatki-i-warunkizycia-ludnosci/budzety-gospodarstw-domowych-w-2021-roku,9,17.html> Dostęp dnia 21.04.2023 r.
- [12] US EPA IRIS. 2011. US Environmental Protection Agency's Integrated Risk Information System. Environmental Protection Agency Region I. Washington DC 20460. <http://www.epa.gov/iris/>.
- [13] Baza danych o składzie żywności do badań epidemiologicznych we Włoszech (BDA). <http://www.bda-ieo.it/test/GroupFood.aspx?Lan=Eng&groupid=8003>. Dostęp dnia 25.04.2023 r.
- [14] Perera DRG, Gunawardana D, Jayatissa R, Silva ABG.: Estimation of Iron Content and Its Contribution in Iron-Fortified Food Products Consumed by School Children in Sri Lanka. J. Food Qual., 2020, #6079379
- [15] Kunachowicz H., Przygoda B., Nadolna I., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej produktów spożywczych [w: Tabele składu i wartości odżywczej żywności]. Wydanie II zmienione, 2019, PZWŁ, 450-463.
- [16] Berski W., Achremowicz B., Gambuś F., Gambuś H.: Zawartość wybranych mikroelementów i pierwiastków śladowych w płatkach owsianych. Acta Agrophys., 2017, 24(1), 5-15.
- [17] Kiewlicz J., Rybicka I.: Minerals and their Bioavailability in relations to dietary fiber, phytates and tannins from gluten and gluten-free flakes. Food Chem., 2020, 305, 125452.

- [18] Achremowicz B., Kuczyński A.P., Puchalski C., Wiśniewski R., Kaszuba J.: Porównanie jakości płatków owsianych z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. *Nauka Przyroda Technologie*, 2016, 10(3), 28.
- [19] Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Kwiatkowska K., Krusiński R.: Breakfast cereal as a source of sodium, potassium, calcium and magnesium for school-age children. *J. Elementol.*, 2016, 21(2), 571-584.
- [20] Lignicka I., Balgalve A., Zidere-Laizāne A.M.: Zinc content in different muesli samples. *Agro. Res.*, 2021, 19(1), 136-146.
- [21] Filipiak-Florkiewicz A., Florkiewicz A., Dereń K.: Zawartość składników bioaktywnych w wybranych przetworach zbożowych. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2016, 49(2), 194-202.
- [22] Rozporządzenie Komisji (UE) 2023/915 z dnia 25 kwietnia 2023 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów niektórych zanieczyszczeń w żywności oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006. *Dz. U. UE.* 2023 nr 915.
- [23] Staniek H., Krejpcio Z.: Ocena zawartości Cd i Pb w wybranych produktach ekologicznych i konwencjonalnych. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, 94(4), 867-861.
- [24] Fiłon J., Karwowska A., Karczewski J.: Zawartość kadmu w produktach zbożowych dostępnych w sprzedaży detalicznej w województwie podlaskim. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2012, 45(3), 343-348.
- [25] Buczek J., Jasiewicz C.: Występowanie ołowiu, kadmu i cynku w zbożach uprawianych w sąsiedztwie drogi E4 Tarnów - Rzeszów - Przemyśl. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2020, 471, 865-872.
- [26] Barone G., Storelli A., Garofalo R., Busco V.P., Quaglia N.C., Centrone G., Storelli M.M.: Assessment of mercury and cadmium via seafood consumption in Italy: Estimated dietary intake (EWI) and target hazard quotient (THQ). *Food Addit. Contam.: Part A*, 2015, 32(8), 1277-1286.
- [27] Price P.S.: The Hazard index at thirty-seven: New science new insights. *Curr. Opin. Toxicol.*, 2023, 34, #100388

TRACE ELEMENTS IN BREAKFAST FLAKES - BENEFITS AND RISKS ASSOCIATED WITH THEIR CONSUMPTION

S u m m a r y

Introduction. Breakfast flakes, contrary to their name, are eaten not only for breakfast, but also as snacks between meals. Children are considered to be the main consumers of flakes, but adults are also eager to choose this type of products. Such a great interest in breakfast flakes is, among others, due to a wide product range, the ease of preparation, low price and high content of nutrients, including trace elements. The aim of this study was to analyze the content of trace elements in breakfast flakes in terms of benefits and risks for consumers. Eleven types of breakfast flakes purchased at a local retail store were the material for the study. The analyses were carried out using ICP-AES (inductively coupled plasma atomic emission spectrometry) and GF-AAS (atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization in a graphite cuvette).

Results and conclusions. The analysis showed that the average iron content in all the analyzed flakes was 62.8 mg/kg, and the richest source of this element were multi-cereal flakes. Oatmeal was characterized by the largest amounts of zinc, copper and manganese. It was also noted that the consumption of a portion of oatmeal provides 57 % of the daily requirement of manganese for men and almost 73 % for women. Based on the results obtained, it was also found that the consumption of breakfast cereals does not

pose a health risk related to the exposure of consumers to the adverse effects of elements supplied to the body while consuming these products.

Key words: ICP-AES, GF-AAS, breakfast flakes, microelements, toxic trace elements 

DOROTA JAKKIELSKA, RAFAŁ WAWRZYNIAK, MARCIN FRANKOWSKI,
ANETTA ZIOŁA-FRANKOWSKA

CHARACTERISTIC OF VOLATILE COMPONENTS PROFILE IN POLISH WINES BY GC-MS

S u m m a r y

Background. Wine is a complex mixture of various compounds with diverse structures and properties. Multiple factors influence the chemical composition of wine. Viticulture is at a disadvantage in Poland, compared to more traditional wine regions. Grapes grown in Poland have lower sugar content, which leads to lower alcohol content and higher acidity of produced wine, which could also be seen as an advantage. Aromatic compounds, which are the subject of this study, influence, along with other factors, the taste and aroma of wine.

Results and conclusions. This paper presents results of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis and characteristic of aroma profiles of Polish wines. We identified 94 volatile compounds in 13 red wines and 53 volatile compounds in 18 white wines, including the following groups of compounds: alcohols, acids, esters, carbonyl compounds, ethers, terpenoids, norisoprenoids, phenols, sulfur compounds and hydrocarbons. The wines were produced from various grape varieties. A comparison of obtained results, both between each other and with results obtained in different studies, showed differences in wine composition, based on various factors. Odor Activity Values (OAVs) were calculated to define the dominant aroma of the analyzed wines, the higher the OAV of a given compound is, the greater impact on wine aroma it has.

Keywords: GC-MS, OAVs, Polish wines, volatile compounds

Introduction

Wine is a complex mixture of various compounds with diverse structures and properties, such as amino acids, carbohydrates, phenolic compounds, proteins, volatile and inorganic compounds, at different concentration levels. Multiple factors, such as

*Mgr D. Jakkieska ORCID: 0000-0002-4466-7099; dr hab. prof. UAM R. Wawrzyniak ORCID: 0000-0001-9765-8287; Zakład Chemii Analitycznej, prof. dr hab. M. Frankowski ORCID: 0000-0001-6315-3758; Zakład Analityki Analitycznej i Środowiskowej, dr hab. prof. UAM A. Ziola-Frankowska ORCID: 0000-0002-8409-5689, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8; 61-614 Poznań;
Kontakt: e-mail: anettazf@amu.edu.pl*

vintage, climate, geographical location, grape variety, yeast strains and wine production processes, including fermentation, largely influence the chemical composition of wine [1]. According to Council Regulation (EC) No 491/2009 of 25 May 2009, amending Regulation (EC) No 1234/2007 establishing a common organization of agricultural markets and on specific provisions for certain agricultural products, Poland is considered to be part of the wine-growing zone A, which is the coldest wine-growing zone in Europe [6, 14]. Conditions for viticulture are worse in Poland than in traditional, typical wine regions. Polish climate and soil cause lower sugar content in grapes, often between 17 to 23 %, which leads to lower alcohol content, higher acidity, better accumulation of certain aroma compounds, including higher polyphenols concentration in produced wine. What can also be seen as an advantage of Polish wine is less sweet and higher acidity, which makes wine more crisp and fresh in taste, especially when it comes to white wines [14]. Polish vineyards are usually family businesses that develop their own characteristic style, being often the result of many years of searching for a suitable place to start a vineyard and depending on grape varieties used and type of wine produced. To counteract unfavorable soil conditions, special preparations, such as effective microorganisms (EM), can be used. They increase the quality of soil, strengthen vines and can be used, among others, in de Sas winery in Dolina Baryczy. Many places in Poland have their own “terroir”, unique microclimate and soil conditions, which can positively influence the cultivation of vines. An example of that is Patria winery, in Upper Silesia, which is located near a river. That location provides a characteristic microclimate and increases the quality of vines. Various grape varieties are grown in Poland, and since grapes and chemical compounds they contain are sensitive to environmental conditions, the quality and characteristics of Polish wines will be different than of wines produced from the same grape varieties, but in a different climate. Wine aroma is one of the deciding factors when choosing wine and it depends on grape-derived compounds, vintage, fermentation and a storage method. The flavor of wine is a result of the presence of specific compounds characteristic to a grape variety used and compounds derived from the fermentation and maturation of wine [32]. Over 1,000 aroma compounds were identified in wines, such as acids, alcohols and terpene alcohols, aldehydes, esters, ethers, hydrocarbons, ketones, lactones, nitrogen and sulfur compounds, and they can occur at various levels of concentration [4]. All those aromatic compounds can influence the taste and aroma of wine. It was possible, in some researches, to pinpoint several key compounds that were largely responsible for a wine taste. However, in most cases, various compounds interact with each other and their specific ratio and combination create the wine taste and aroma [4, 9]. Understanding the role of key aroma compounds helps to control the quality of produced wine and helps to choose correct and suitable wine growing and production processes [4]. The aim of this study was to determine volatile organic compounds present in various

wines from Polish vineyards by GC-MS analytical technique. Moreover, the evaluation of the contribution of aroma compounds to Polish wines through the calculation of OAVs was made. Based on this study, it can be possible to illustrate the aroma fingerprints differences of those compounds involved in the final aroma of wine from Poland.

Material and methods

Wine samples

In this study 31 wine samples were analyzed, 18 white wines and 13 red wines. All the wines were produced in Poland from the following grape varieties. White wines were produced from Seyal Blanc, Riesling, Sibera, Hiberna, Gewürztraminer, Chardonnay and Solaris, while red wines were produced from Pinot Nor, Regent, Rondo, Zweigelt and Cabernet Cortis. Most of the samples, 23, were produced from one grape variety, and eight samples were produced from at least two different grape varieties. The wines were produced in the following provinces: Świętokrzyskie Province (five wines), Małopolskie Province (eight), Dolnośląskie Province (ten), Lubuskie Province (two), Śląskie Province (three), Podkarpackie Province (one) and Zachodniopomorskie Province (two). The dominating aroma of the analyzed wines was fruity, with only three samples of white wine not having fruity aroma according to producers. The wine samples were spiked with $2.5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ of 2-octanol (98 % purity) as Internal Standard (IS) [4].

SPME sample conditions

The wine samples (0.3 cm^3 , undiluted) were pipetted into 1.5 cm^3 round-bottomed, glass vials, each containing $90 \text{ mg} (\pm 1 \text{ mg})$ NaCl. The vials were immediately placed in the instrument for an analysis. A 2 cm 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, USA), 23-gauge SPME fiber was used for sampling. The samples were warmed at $35 \text{ }^\circ\text{C}$ and agitated for 5 minutes before exposing the fiber for 30 minutes at $35 \text{ }^\circ\text{C}$ with agitation. This was immediately followed by the desorption of the analytes at $250 \text{ }^\circ\text{C}$ into the gas chromatograph injector [5, 12]. The solid-phase fiber remained in the injector for about 5 min. All the samples were analyzed in triplicate.

GC-MS analysis

This profiling method was developed using a ISQ QD mass spectrometer coupled to a Trace 1310 GC equipped with a TriPLUS RSH autosampler (Thermo Fisher Scientific, USA). Due to the applied SPME technique, splitless injection mode and liner 0.8 mm i.d. were used. Compounds were separated on a polar column Zebron ZB-Wax, 30 m length \times 0.25 mm ID, $0.25 \mu\text{m}$ film thickness (Phenomenex, USA). Helium was

used as a carrier gas with a column flow rate of $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Temperature program: $40 \text{ }^\circ\text{C}$ hold for 10 minutes, ramp $2 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ to $200 \text{ }^\circ\text{C}$, hold for 1 minute, ramp $2 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ to $250 \text{ }^\circ\text{C}$, hold for 10 minutes. The selective mass detector was operated at 70 eV in the EI mode over the m/z range $30 \div 350$, scanned at 0.2 s intervals and temperature transfer line $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

Qualitative analysis and quantification

The constituents were identified by comparing their Kovats retention indices with those from the literature, reference compounds, computer matching against the NIST 11, data obtained from NIST Chemistry WebBook databases. The quantification was carried out following the internal standard quantification method. The 2-octanol was chosen as internal standard, due to the fact that it did not exist in the analyzed wines, and is used to determine the profile of volatile organic compounds in alcoholic beverages [2, 11, 18]. The concentration of the identified component was obtained by interpolation of the relative areas of these compounds versus the internal standard area in calibration graphs obtained for reference compounds, similarly to other studies [2, 10, 11, 16, 18]. The concentration of the components for which there was no available standards was obtained from calibration graphs as one of compounds with a similar chemical structure [21].

Results and discussion

Aroma compounds in wines

In this study, 94 volatile compounds in red wines and 53 volatile compounds in white wines, including the following groups of compounds: alcohols, acids, esters, carbonyl compounds, ethers, terpenoids, norisoprenoids, phenols, sulfur compounds and hydrocarbons (Table 1) were determined. Not all the analyzed compounds were determined in every wine sample. In the figures, chromatograms from the analysis of the Polish white and red wine samples were presented (Fig. 1a and 1b).

The most important aroma compounds that come from grapes used in wine production are monoterpenes, which mostly occur as alcohols, ethers and hydrocarbons, norisoprenoids, benzenoid compounds that originate from shikimic acid and sulfured compounds. Monoterpenes provide basic floral aroma, and C_6 alcohols rose-like scent, higher alcohols and ethyl esters of $\text{C}_4 \div \text{C}_{10}$ fatty acids contribute to the fruity scents, while the occurrence of norisoprenoids is connected with some specific ageing aroma and abundance of fatty acids that can contribute to a “goaty” flavor of wine [25]. Somkuwar et al. [23] evaluated aroma composition by analyzing 64 compounds in various red wines (Cinsaut, Grenache, Cabernet Franc, Petit Verdot, Cabernet Sauvignon, Nielluccio, Tempranillo, Syrah, Merlot and Caladoc) made from grapes grown

Table 1. Concentrations, LOD (limit of detection) and RI (retention index) values of analyzed compounds in white and red wines [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]Tabela 1. Stężenia, wartości granic oznaczalności i indeksów retencji dla analizowanych związków w białych i czerwonych winach [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]

Compound / Związek	RI	LOD	White wines (n = 18) / Białe wina (n = 18)			Red wines (n = 13) / Czerwone wina (n = 13)		
			Min / Min	Max / Maks	Mean / Średnia	Min / Min	Max / Maks	Mean / Średnia
Acids / Kwasy								
acetic / octowy	1442.00	5.41	54.09	321.78	154.10	<LOD	487.55	302.05
pentanoic / n-pentanowy	1713.00	0.27	<LOD	784.83	87.37	26.22	76.59	43.44
4-hydroxy butanoic / 4-hydroksybutanowy	1633.00	0.93	<LOD	<LOD	-	<LOD	42.66	28.81
isobutanoic / izobutanowy	1581.00	0.32	<LOD	50.69	14.54	<LOD	51.27	35.56
butanoic / butanowy	1651.00	0.26	4.90	55.51	20.87	<LOD	19.34	19.34
2-methylbutanoic / 2-metylobutanowy	1686.00	0.27	<LOD	<LOD	-	<LOD	148.90	66.86
3-methylbutanoic / 3-metylobutanowy	1691.00	0.31	<LOD	<LOD	-	<LOD	40.63	36.40
hexanoic / heksanowy	1866.00	0.22	<LOD	458.90	289.85	121.97	319.04	217.76
2-ethylhexanoic / 2-etyloheksanowy	1962.00	0.25	5.43	11.88	7.47	<LOD	11.34	7.56
octanoic / oktanowy	2050.00	0.20	424.72	917.88	687.15	150.08	646.85	342.12
nonanoic / nonanowy	2171.00	0.17	2.38	8.13	5.98	<LOD	5.08	5.08
decanoic / dekanowy	2279.00	0.11	<LOD	206.17	75.52	6.19	83.53	29.71
2,4-hexadienoic acid / 2,4-heksadienowy	2150.00	0.12	<LOD	1157.70	590.63	<LOD	<LOD	-
9-decenoic acid / 9-decenowy	2335.00	0.13	<LOD	12.65	5.34	<LOD	<LOD	-
Esters / Estry								
ethyl acetate / octan etylu	880.00	0.45	857.51	1532.02	1107.50	1331.53	2371.03	1776.79
isobutyl acetate / octan izobutyli	1015.00	0.21	<LOD	<LOD	-	<LOD	23.35	23.35
ethyl butanoate / butanian etylu	1021.00	0.19	37.52	141.51	66.97	21.11	91.62	43.10
ethyl 2-methylbutanoate / 2-metylobutanian etylu	1042.00	0.13	<LOD	<LOD	-	<LOD	185.93	106.68
ethyl 3-methylbutanoate / 3-metylobutanian etylu	1064.00	0.18	<LOD	<LOD	-	<LOD	86.41	35.69
3-methyl-1-butyl acetate / octan 3-metylo-1-butyli	1126.00	0.17	392.83	1636.15	1025.23	<LOD	1249.66	628.81
methyl isohexanoate / izoheksanian metylu	1136.00	0.25	<LOD	<LOD	-	<LOD	4.07	4.07
ethyl 2-butenate / 2-butenian etylu	1157.00	0.12	<LOD	19.93	5.81	<LOD	7.34	6.72
methyl hexanoate / heksanian metylu	1177.00	0.11	2.13	32.53	13.50	<LOD	10.56	9.40
ethyl hexanoate / heksanian etylu	1223.00	0.15	156.88	463.66	287.12	<LOD	262.20	150.61
hexyl acetate / octan heksyli	1278.00	0.23	<LOD	152.33	49.55	<LOD	9.63	6.80
ethyl 2-hexanoate / 2-heksanian etylu	1340.00	0.19	<LOD	17.02	9.23	<LOD	18.34	12.15
ethyl lactate / mleczan etylu	1347.00	0.40	14.51	520.96	102.45	421.20	795.61	550.80
methyl octanoate / oktanian metylu	1388.00	0.16	12.35	95.05	43.48	<LOD	15.22	11.14
ethyl octanoate / oktanian etylu	1422.00	0.13	166.12	763.66	370.98	77.38	327.06	213.95
ethyl 3-hydroxybutanoate / 3-hydroksybutanian etylu	1515.00	0.32	<LOD	<LOD	-	<LOD	21.22	12.96
amyl lactate / mleczan amylu, pentylu	1610.00	0.21	<LOD	<LOD	-	<LOD	13.06	8.01
isopentyl methoxyacetate / metoksyoctan izopentylu	1570.00	0.38	<LOD	<LOD	-	<LOD	108.49	73.42
isoamyl lactate / mleczan izopentylu	1577.00	0.62	<LOD	<LOD	-	<LOD	86.94	39.66
ethyl methyl succinate / bursztynian etylu i metylu	1631.00	0.76	<LOD	<LOD	-	<LOD	30.33	25.19
ethyl decanoate / dekanian etylu	1643.00	0.43	<LOD	<LOD	-	<LOD	14.35	8.82
diethyl succinate / bursztynian dietylu	1674.00	0.43	<LOD	561.99	221.76	121.47	1191.13	499.74
methyl salicylate / salicylan metylu	1735.00	0.17	<LOD	<LOD	-	<LOD	22.30	13.68
ethyl phenylacetate / feniloctan etylu	1783.00	0.15	<LOD	<LOD	-	<LOD	7.10	7.10
ethyl butyl succinate / bursztynian etylu i butylu	1814.00	0.52	<LOD	<LOD	-	<LOD	14.44	13.33
2-phenethyl acetate / octan 2-fenetyli	1826.00	0.17	13.38	172.54	62.09	<LOD	117.04	39.12
ethyl-3-methylbutyl butanoate / butanian etylu-3-metylobutyli	1861.00	0.14	<LOD	<LOD	-	<LOD	86.35	33.21
diethyl phthalate / ftalan dietylu	2352.00	0.14	<LOD	<LOD	-	<LOD	14.88	7.69
ethyl hydrogen succinate / wodorobursztynian etylu	2367.00	0.11	<LOD	54.29	25.39	<LOD	117.96	54.34

ethyl sorbate / sorbinian etylu	1501.00	0.22	<LOD	938.42	351.45	<LOD	<LOD	-
ethyl leucate / 2-hydroksy-4-metylopentanian etylu	1547.00	0.21	5.93	241.37	76.19	<LOD	<LOD	-
diethyl hydroxybutanoate / hydroksybutanian dietylu	2039.00	0.41	3.18	67.73	15.11	<LOD	<LOD	-
Alcohols / Alkohole								
1-propanol / 1-propanol	1038.00	0.49	<LOD	58.70	26.50	<LOD	172.84	70.66
2-methyl-1-propanol / 2-metylo-1-propanol	1114.00	0.38	178.14	1061.87	578.69	642.46	1410.75	1021.08
1-butanol / 1-butanol	1145.00	0.42	4.12	29.89	13.46	15.96	122.69	34.92
cyclopentanol / cyklopentanol	1300.00	0.20	<LOD	<LOD	-	<LOD	10.08	6.98
3-methyl-1-butanol (isoamylol) / 3-metylo-1-butanol	1211.00	0.28	3169.75	6589.83	4687.77	4205.80	7115.36	5792.30
3-methyl-3-buten-1-ol / 3-metylo-3-buten-1-ol	1245.00	0.34	<LOD	<LOD	-	<LOD	4.03	4.03
1-pentanol / 1-pentanol	1269.00	0.11	<LOD	<LOD	-	<LOD	9.68	3.93
4-methyl-1-pentanol / 4-metylo-1-pentanol	1314.00	0.19	2.00	16.10	7.61	<LOD	56.27	19.53
2-heptanol / 2-heptanol	1321.00	0.41	<LOD	<LOD	-	<LOD	19.80	10.24
3-methyl-1-pentanol / 3-metylo-1-pentanol	1334.00	0.22	7.12	38.14	18.89	9.15	70.73	39.13
1-hexanol / 1-heksanol	1359.00	0.35	358.75	951.33	664.72	533.58	1581.49	1071.22
3-hexen-1-ol / 3-heksen-1-ol	1372.00	0.49	4.11	27.34	13.52	7.26	38.23	19.87
3-ethoxy-1-propanol / 3-etoksy-1-propanol	1382.00	0.22	<LOD	20.20	8.17	<LOD	33.91	13.69
4-hexen-1-ol / 4-heksen-1-ol	1401.00	0.41	<LOD	<LOD	-	<LOD	35.14	18.29
3-octanol / 3-oktanol	1409.00	0.27	<LOD	<LOD	-	<LOD	5.93	4.92
1-octen-3-ol / 1-okten-3-ol	1452.00	0.35	<LOD	<LOD	-	<LOD	13.33	8.46
1-heptanol / 1-heptanol	1461.00	0.43	<LOD	48.80	19.58	31.84	93.46	50.68
2-propyl-1-pentanol / 2-propylo-1-pentanol	1484.00	0.47	<LOD	<LOD	-	<LOD	91.77	91.77
2-ethyl-1-hexanol / 2-etylo-1-heksanol	1491.00	0.52	13.05	106.62	35.56	<LOD	227.20	69.30
2-nonanol / 2-nonanol	1521.00	0.51	<LOD	<LOD	-	<LOD	13.14	8.67
2,3-butanediol / 2,3-butanodiol	1543.00	1.35	23.93	241.37	93.13	<LOD	306.49	184.05
1-octanol / 1-oktanol	1556.00	0.66	7.05	44.50	23.80	29.41	55.43	41.80
1,2-propanediol (propylene glycol) / 1,2-propanodiol	1599.00	1.12	<LOD	<LOD	-	<LOD	15.61	15.61
1-nonanol / 1-nonanol	1660.00	0.74	<LOD	<LOD	-	<LOD	28.14	16.88
2-furanmethanol / 2-furanometanol	1669.00	0.10	<LOD	54.21	14.17	<LOD	46.36	28.94
benzyl alcohol / alkohol benzylowy	1877.00	0.16	<LOD	<LOD	-	<LOD	217.20	49.54
2-phenylethanol / 2-fenyletanol	1912.00	0.24	350.35	1370.04	753.60	647.48	2014.32	1176.03
1,2,3-propanetriol (glycerine) / 1,2,3-propanotriol	2316.00	1.91	<LOD	<LOD	-	<LOD	640.45	346.12
Carbonyl compounds / Związki karbonylowe								
acetaldehyde / aldehyde octowy	740.00	0.12	<LOD	<LOD	-	<LOD	168.43	80.34
2-butanone / 2-butanon	923.00	0.21	<LOD	<LOD	-	<LOD	26.44	26.44
2-octanone / 2-oktanon	1297.00	0.13	<LOD	<LOD	-	<LOD	10.12	10.12
3-hydroxy-2-butanone / 3-hydroksy-2-butanon	1286.00	0.37	<LOD	<LOD	-	<LOD	8.91	7.52
nonanal / nonanal, aldehyd pelargonowy	1394.00	0.15	<LOD	<LOD	-	<LOD	7.10	7.10
furfural / furfural	1468.00	0.16	<LOD	65.89	16.32	<LOD	114.29	48.31
benzaldehyde / benzaldehyd	1508.00	0.18	<LOD	<LOD	-	<LOD	515.62	193.71
γ -butyrolactone / γ -butyrolakton	1626.00	0.10	<LOD	<LOD	-	<LOD	41.87	24.59
2,4-dimethylbenzaldehyde / 2,4-dimetylobenzaldehyd	1710.00	0.12	<LOD	<LOD	-	18.53	36.78	26.57
2-tert-butyl-5-propyl-1,3-dioxolan-4-one / 2-tert-butyl-5-propylo-1,3-dioksolan-4-on	1820.00	0.27	<LOD	<LOD	-	<LOD	7.10	7.10
trans-3-methyl-4-octanone / trans-3-metylo-4-oktanolid	1861.00	0.26	<LOD	<LOD	-	<LOD	5.78	5.78
5-butyl-4-methyloxolan-2-one (whiskey lactone) / 5-butyl-4-metyloksolan-2-on	1910.00	0.37	<LOD	<LOD	-	<LOD	12.81	9.38
3,5-dimethylbenzaldehyde / 3,5-dimetylobenzaldehyd	1837.00	0.19	16.17	42.05	28.68	<LOD	<LOD	-
Ethers / Etery								
1-(1-ethoxyethoxy)pentane / 1-(1-etoksyetoksy)pentan	1109.00	0.41	<LOD	<LOD	-	<LOD	18.10	17.17
1-(1-ethoxyethoxy)hexane / 1-(1-etoksyetoksy)heksan	1258.00	0.20	<LOD	<LOD	-	<LOD	<LOD	-
Phenols / Fenole								
4-ethyl-2-methoxyphenol / 4-etylo-2-	2033.00	0.52	<LOD	<LOD	-	<LOD	22.20	14.47

metoksyfenol								
4-ethylphenol / 4-etylofenol	2164.00	0.41	<LOD	<LOD	-	<LOD	259.82	78.73
2,4-ditertbutylphenol / 2,4-di-tert-butylfenol	2330.00	0.79	19.79	34.59	26.89	14.15	30.34	22.94
Sulfur compounds / Związki siarki								
dimethyl sulfide / siarczek dimetylu	716.00	0.31	<LOD	<LOD	-	<LOD	28.13	28.14
3-methylthio-1-propanol / 3-metylotio-1-propanol	1717.00	0.78	<LOD	26.90	11.98	<LOD	110.83	52.34
Hydrocarbons / Węglowodory								
undecane / undekan	1100.00	0.73	<LOD	<LOD	-	<LOD	64.23	36.16
Terpenoids / Terpenoidy								
cis-rose oxide / tlenek cis-róży, cis-rose	1339.00	0.22	<LOD	17.07	8.73	<LOD	<LOD	-
nerol oxide / tlenek nerolu	1465.00	0.18	<LOD	199.26	45.87	<LOD	<LOD	-
linalool / linalol	1537.00	0.76	11.34	119.20	51.91	<LOD	213.54	113.88
hotrienol / hotrienol	1607.00	0.27	10.72	363.42	85.05	<LOD	<LOD	-
α -terpineol / α -terpineol	1708.00	0.31	9.86	91.78	35.65	<LOD	<LOD	-
terpineol / α -terpineol	1680.00	0.69	<LOD	<LOD	-	<LOD	22.04	17.16
3,7-dimethyl-6-octen-1-ol (citronellol) / 3,7-dimetylo-6-okten-1-ol	1769.00	0.42	<LOD	22.84	7.42	<LOD	7.04	5.58
Norisoprenoids / Norisoprenoidy								
β -damascenone / β -damascenone	1801.00	0.74	<LOD	<LOD	-	<LOD	54.43	54.43

Explanatory notes / objaśnienia:

RI – retention index / indeks retencji; LOD – limit of detection / limit wykrywalności

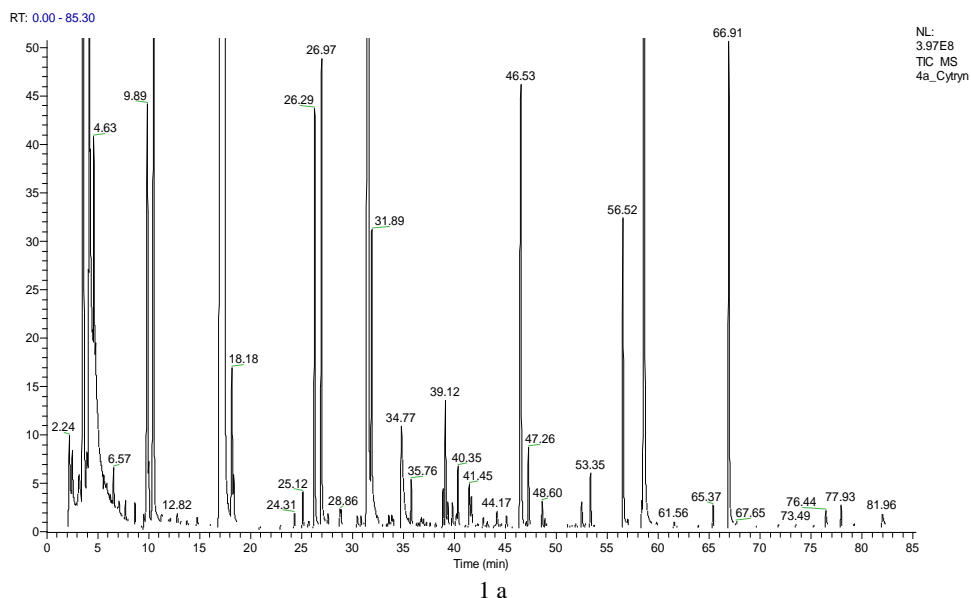


Fig. 1a. Chromatogram of white wine from Śląskie Province after GC-MS analysis.

Rys. 1a. Chromatogram wina białego z województwa śląskiego na podstawie analizy GC-MS.

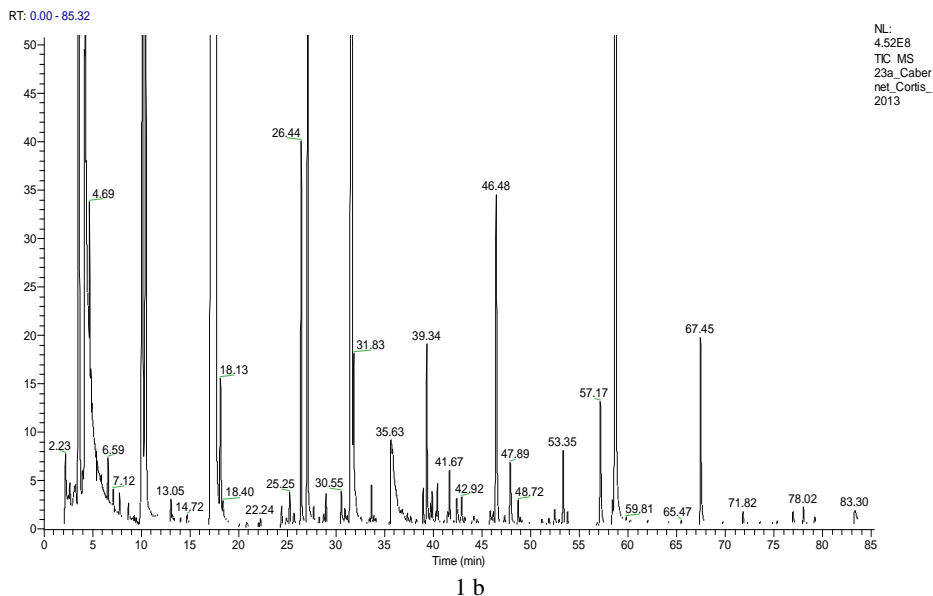


Fig. 1b. Chromatogram of red wine from Małopolskie Province after GC-MS analysis.

Rys. 1b. Chromatogram wina czerwonego z województwa małopolskiego na podstawie analizy GC-MS.

under tropical conditions of India. Alcohols were found to be the most dominant group of volatile compounds identified in tested wines, followed by esters and acids, with lower concentrations of aldehydes, phenols and terpenes [23]. In our study, alcohols were also found to be the dominant group of volatile compounds, followed by esters and acids. Carbonyl compounds, phenols, norisoprenoids, sulfur compounds, hydrocarbons, terpenoids and ethers were found at lower concentrations. Longo et al. (2020) conducted a preliminary study on Pinot noir wines from five Australian winegrowing regions (Adelaide Hills, Yarra Valley, Mornington Peninsula, Northern and Southern Tasmania). In the study, 27 compounds were determined – alcohols, esters, acids and norisoprenoids [17]. Qian et al. [22] characterized 114 volatile compounds of Cabernet Sauvignon wines from two different clones during oak barrel aging. In our study, Polish wines produced from other Cabernet grape varieties were analyzed – Cabernet Dorsa and Cabernet Cortis and we determined 104 volatile compounds in them. Zhao et al. [31] characterized volatile aroma compounds in litchi (Heiye) wine and distilled spirit. They observed 128 different aroma compounds, which belonged to six chemical groups: esters, alcohols, acids, terpenes, aldehydes and ketones, and other compounds, and 59 of them were determined in litchi wine [31]. Issa-Issa et al. determined 54 volatile compounds (alcohols, esters, acids, aldehydes, lactones, phenols, hydrocarbons and ketones) in Fondillón, which is a wine made from overripe grapes of the Monastrell variety [13]. Fandiño et al. [7] analyzed the chemical composition and sensory proper-

ties of Albariño wine and impact of fertigation on wine content. They determined 31 volatile compounds, and their concentration was different depending on fertigation used [7]. Lan et al. (2021) characterized key odor-active compounds in sweet Petit Manseng (*Vitis vinifera* L.) wine by determining 42 aroma compounds [15]. Nicolotti et al. [20] analyzed 36 key aroma compounds in Australian Cabernet Sauvignon red wine. The highest concentrations were determined for acetic acid, 3-methylbutanol, 2-methylbutanol, methylpropanol and 2-phenylethanol, which are important odorants and can be produced during microbial fermentation [20]. Benkwitz et al. [3] examined 17 compounds, determined with the highest OAV values, in Sauvignon Blanc wines. 3-Mercaptohexanol and 3-mercaptohexyl acetate were found to be the most important odorants, with β -damascenone and varietal thiols, esters, terpenes and higher alcohols being key aroma compounds [3]. Mayr et al. [19] analyzed 48 aroma compounds in Shiraz wine from two regions – Barossa Valley and Margaret River. The highest concentrations were determined for acetic acid, ethyl lactate and ethyl acetate, and the highest OAV values for ethyl octanoate, β -damascenone, ethyl hexanoate and ethyl 3-methylbutanoate [19].

Acids

We determined 13 acids in analyzed wines (Table 1). It is worth noting that fatty acids are considered to be acids with the biggest impact on wine aroma. Their excess can contribute to an unpleasant flavor, while the right concentration to a pleasant, fresh flavor [24]. The highest concentrations were determined for octanoic acid, 2,4-hexadienoic acid and hexanoic acid in white wines, and for octanoic acid, acetic acid and hexanoic acid in red wines. White wine samples with the highest total mean acid concentration were three samples having a tropical and citrus fruit aroma, while for red wines these were three samples having a red and forest fruit aroma. It is worth emphasizing that the highest total mean concentrations of the analyzed acids were found in the samples having fruit aromas, for both white and red wines. Somkuwar et al. [23] analyzed 12 acids – acetic acid, dodecanoic acid, hexanoic acid, n-decanoic acid, nonanoic acid, octanoic acid, oxalic acid, pentadecanoic acid, propanoic acid, 2-methylpropanoic acid, tetradecanoic acid and undecanoic acid. The concentrations ranged from $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (propanoic acid in Cabernet Franc and Caladoc wines, oxalic acid in Cabernet Franc, Merlot and Caladoc wines) to $14.5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (acetic acid in Grenache wine). The highest concentrations were determined for acetic acid, oxalic acid, octanoic acid and hexanoic acid, which is comparable to the results obtained in this study for red wine with octanoic acid, acetic acid and hexanoic acid being determined with the highest concentrations out of all detected acids. The highest values obtained for those acids in this study were lower than the highest values obtained by Somkuwar et al. [23]. Zhao et al. [31] determined 11 acids in litchi wine. The highest concentra-

tions were determined for decanoic acid ($993.17 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), octanoic acid ($964.80 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and 3,7-dimethyl-6-octadienoic acid ($373.26 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). The lowest concentrations were determined for methylenecyclopropane-2-carboxylic acid ($13.10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and hexanoic acid ($52.38 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). In our study, the highest concentration of decanoic acid was determined in white wine sample, and it was lower than the value obtained for litchi wine. The highest concentration of octanoic acid was determined in another white wine sample, and it is comparable to the value obtained for litchi wine. In our study, hexanoic acid concentrations were higher, in both white and red wine, than the values obtained for litchi wine [31].

Esters

We analyzed 32 esters, which are the main volatile compounds in wines [32]. They contribute to the fruity aroma of young wines and their concentration can change during wine ageing, which is caused by esterification and hydrolysis [24]. Ethyl and acetate esters are associated with fruity and floral aromas [27]. In red wines, the highest concentrations were determined for ethyl acetate, isoamyl acetate and ethyl lactate, and in white ones, they were determined for ethyl acetate and isoamyl acetate. It is worth emphasizing that ethyl and acetate esters are typically associated with fruity and floral aromas [27]. High concentration of isoamyl acetate is connected with a pear aroma, and we determined its high concentration in wine with a pear aroma. On the other hand, high concentrations of ethyl cinnamate and ethyl hexanoate can contribute to unfavorable odors of wax and honey [30]. The highest concentration of ethyl hexanoate was determined for the white wine sample with banana, pear and gooseberry aromas, however, ethyl cinnamate was not determined in that sample. Sonni et al. reported that 2-phenylethyl acetate is a compound that can enhance floral and sweet aromas in young white wines, especially when it occurs alongside another compound having a sweet aroma, such as isoamyl acetate [24]. We determined both isoamyl acetate and 2-phenylethyl acetate in the Polish white wine samples, which confirms their impact on the aroma of wines. Another compound, whose presence is connected with floral and fruity aromas, is hexyl acetate [27], which was determined in our samples, but at low concentrations. High concentrations of 4-methyl-3-hexanol, ethyl-3-hydroxybutanoate, 3-ethoxy-1-propanol, isoamyl acetate, ethyl hydrogen succinate and diethyl malate can contribute to fruity, apple skin like, banana, grape-like, sweet and sugar aromas. We determined 3-ethoxy-1-propanol, isoamyl acetate, ethyl-3-hydroxybutanoate and ethyl hydrogen succinate in red wines, and 3-ethoxy-1-propanol, isoamyl acetate, diethyl malate and ethyl hydrogen succinate in white wines. All the red wine samples and most of the white wine samples, except for three samples, had fruit aromas. Qian et al. [22] analyzed 35 esters in Chinese Cabernet Sauvignon wines. The highest concentrations were determined for ethyl acetate ($64580 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), ethyl lac-

tate ($53020 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and diethyl succinate ($3020 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Those esters were also determined at the highest concentrations in Polish wines produced from Cabernet Cortis and combination of Cabernet Dorsa, Zweigelt, Rondo and Regent, together with isoamyl acetate, but at significantly lower concentrations. The lowest concentration was determined for ethyl undecanoate ($0.14 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), which was not analyzed in our study [22]. Somkuwar et al. [23] analyzed 23 esters. Concentrations ranged from $0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (ethyl ester hexanoic acid [ethyl caproate] in Merlot and Caladoc) to $27300 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (isoamyl lactate in Nielluccio wine). The highest concentrations were determined for isoamyl lactate; butanedioic acid, diethyl ester [diethyl succinate]; propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester [ethyl lactate]; 4-decenoic acid, ethyl ester, (Z)-. In our study, the highest concentrations were determined for ethyl acetate, 3-methyl-1-butyl acetate (isoamyl acetate), diethyl succinate (clorius) and ethyl lactate (actylol). In both studies, diethyl succinate and ethyl lactate were determined as two of the dominating esters in red wines [23].

Alcohols

Alcohols are the products of the degradation of lipids, amino acids and carbohydrates [9]. Their high concentration can negatively impact the wine taste due to their intensive smell overpowering the aroma of wine [24]. It is also related to a vegetal, bell pepper aroma of aged red wine [8]. In our study, we determined high concentrations of 1-hexanol in both the red and white wines, which can contribute to an undesirable herbaceous flavor [30]. We identified 29 alcohols in the red wines and 15 alcohols in the white wines. In both red and white wines, the highest concentrations were determined for 2-methyl-1-propanol (isobutanol), 3-methyl-1-butanol (isoamylol), 1-hexanol and 2-phenylethanol. Wang et al. reported that 2-phenylethanol contributes to rose notes in Grenache and Calkarasi rose wines [27]. We found it to be at high concentrations in our samples, but they did not have a rose aroma. Qian et al. (2022) analyzed 21 alcohols in Chinese Cabernet Sauvignon wines. The highest concentrations were determined for isopentanol ($233480 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), isobutanol ($41740 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), 2-phenylethanol ($38560 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), 1-butanol ($2570 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and 1-hexanol ($2540 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Isopentanol, isobutanol, 2-phenylethanol and 1-hexanol were also determined at highest concentrations in Polish wines produced from Cabernet Cortis and combination of Cabernet Dorsa, Zweigelt, Rondo and Regent, but their concentrations were significantly lower than in Chinese wines. 1-Butanol concentration was low in the Polish wines (Table 1). The lowest concentration was determined for 2-nonanol ($0.70 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and was slightly higher in the Polish wines [22]. Fandiño et al. [7] determined 11 alcohols in Albariño wine. The highest concentrations were obtained for 2- and 3-methyl-1-butanol ($51100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), 2-phenylethanol ($16027 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), 2-methyl-1-propanol ($3295 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). In our study, the results obtained for those alcohols in the Polish white wines were lower and 2-methyl-

1-butanol was not analyzed. The lowest concentrations were determined for 1-octanol ($129 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), comparable to 1-octanol concentration determined in the Polish white wines (Table 1) [7]. Lan et al. [15] determined nine alcohols in sweet Petit Manseng wine. The highest concentrations were determined for 2,3-butanediol ($267447.2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), phenylethanol ($10845.4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and isoamyl alcohol ($96875.7 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Concentrations for all these three alcohols were lower in the Polish white wines. Isoamyl alcohol had the highest alcohol concentration in the Polish white wines (Table 1). The lowest concentration was determined for 3-mercaptophexanol ($3.6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), which was not analyzed in the Polish white wines [15].

Carbonyl compounds

Carbonyl compounds can contribute to a richer and more unique wine aroma [9]. We determined 12 carbonyl compounds in the red wines, but only two in the white wines. Benzaldehyde, acetaldehyde and furfural were determined to occur at the highest mean concentrations in the red wines, furfural and 3,5-dimethylbenzaldehyde were the only carbonyl compounds that were found in the white wines. Only one red wine sample contained 2-octanone, nonanal, 2-tert-butyl-5-propyl-1,3-dioxolan-4-one, trans-3-methyl-4-octanolide and 5-butyl-4-methyloxolan-2-one (Whiskey lactone). The distinguishing mark of this wine sample is its rowanberry and cranberry aromas, characteristic to only this one wine in our study. Issa-Issa et al. [13] determined five aldehydes and ketones (furfural, benzaldehyde, vanillin, acetoin and 2(5H)-furanone) and three lactones (γ -butyrolactone, whiskey lactone and pantolactone) in Fondillón wine. Five of these compounds were determined in both Fondillón and the Polish red wines – furfural, benzaldehyde, acetoin, γ -butyrolactone and whiskey lactone. Acetoin and γ -butyrolactone concentrations were significantly lower in the Polish red wine than in Fondillón, furfural and whiskey lactone were lower in the Polish red wine than in Fondillón, and benzaldehyde concentration was higher in the Polish red wine than in Fondillón (Table 1) [13]. Qian et al. [22] analyzed four carbonyl compounds – acetoin, benzaldehyde, benzeneacetaldehyde and decanal, and two lactones – trans-Whiskey lactone and cis-Whiskey lactone, in Chinese Cabernet Sauvignon wines. Carbonyl compounds concentrations ranged from $2.48 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (decanal) to $2470 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (acetoin) and lactones were not determined before the aging process. Acetoin and benzaldehyde were also determined in the Polish wines produced from Cabernet Cortis and a combination of Cabernet Dorsa, Zweigelt, Rondo and Regent – acetoin at significantly lower concentrations and benzaldehyde at higher concentrations (Table 1) [22]. Zhao et al. [31] determined five aldehydes and ketones – 3,7-dimethylnona-2,6-dienal, 3-furaldehyde, 1,3-dioxolane-4-methanol, 2-methyl-3-octanone and 2-octanone, at concentrations from 4.58 to $41.47 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, in litchi wine. Out of all these five compounds, only one was also determined in our study – 2-octanone in one red wine sample. The

concentration was very similar to the one obtained for 2-octanone in litchi wine ($10.91 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) (Table 1) [31].

Norisoprenoids

Norisoprenoids, such as β -ionone, β -damascenone, vitispirane and TDN, are important compounds that can influence the wine aroma [8]. We determined only one norisoprenoid in this study – β -damascenone, and only in one sample of red wine at the concentration of $54.43 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. It could be related to seasonal changes of the weather, temperature in Poland, and could result from a shorter period of time during which grapevines were exposed to the sunlight, which could lead to a lower carotenoids concentration in vines, which are believed to be precursors to C_{13} norisoprenoids. Its low concentration could confirm the relationship between the Polish climate and viticulture. It also confirms that the quality of wine is connected with “terroir”, a set of characteristics of a given place, its geographic, geological and climatic impact, which, when combined with plant genetics, influence grape-derived products [1]. Longo et al. [17] determined concentrations of 3 C_{13} -norisoprenoids – α -ionone, β -ionone and β -damascenone. The concentrations ranged from 0.04 (β -ionone in wine from Southern Tasmania) to $1.41 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (β -damascenone in wine from Northern Tasmania). Two of these compounds were not tested in our research, only β -damascenone was determined in one sample and at higher concentrations than in the wine from Northern Tasmania [17]. Qian et al. [22] analyzed five norisoprenoids – β -damascenone, riesling acetal, vitispirane A, vitispirane B and TDN in Chinese Cabernet Sauvignon wines. Their concentrations ranged from $0.47 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (vitispirane B) to $1.85 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (β -damascenone). Norisoprenoids were not analyzed in the Polish wines produced from Cabernet Cortis and a combination of Cabernet Dorsa, Zweigelt, Rondo and Regent [22].

Terpenoids and other compounds

The next group of compounds analyzed in the Polish wines were terpenoids, which can contribute to a flower aroma of wine [8]. Terpenoids were determined in all the samples of the white wines, with the total concentrations of all terpenoids per sample in the range of 95.73 to $648.20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ and a mean value of $206.14 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, however, they were determined in only five samples of the red wines, with the total concentrations in the range of 7.04 to $235.29 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ and a mean value of $80.86 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, hence at lower mean concentrations than in the white wines. Terpeneol was determined only in the red wines. Moreover, we determined ethers, phenols, sulfur compounds and hydrocarbons in the red wines, and phenols and sulfur compounds in the white wines. Phenols, especially anthocyanins, can be used as markers to characterize different grape varieties [26]. High concentrations of 2-phenylethyl alcohol and 2-phenylethyl acetate can contribute to a floral/perfumed aroma [24]. The samples with the highest concen-

tration of 2-phenylethyl acetate did not have a floral aroma. 2-Phenylethanol was found in every red and white wine sample at high concentrations. Feng et al. [9] reported that 3-methyl-butanol, 3-hydroxy-butanone 2,3-butanediol, phenylethanol, hexanol, aldehyde and nonanal contributed to green, floral and fruity aromas in mulberries. We determined high concentrations of 3-methyl-butanol and 2,3-butanediol in red and white wine samples. Somkuwar et al. [23] analyzed four phenols and five terpenes. Phenols concentrations ranged from $0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (2-methyl-phenol in Cabernet Franc) to $1530 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (2-methoxy-4-vinylphenol in Grenache). Terpenes concentrations ranged from $0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (α -terpinene in Petit Verdot, Cabernet Sauvignon, Tempranillo and Caladoc, terpinolen in Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon and Caladoc, D-limonene in Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Merlot and Caladoc) to $24840 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (1,4-cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-[γ -Terpene] in Nielluccio). In our study, we also determined phenols and terpenoids, but different than the ones determined by Somkuwar et al. [23], therefore results cannot be compared. Qian et al. [22] analyzed nine terpenes and 25 phenols and phenolic aldehydes in Chinese Cabernet Sauvignon wines. Terpenes concentrations ranged from $0.053 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (cis-rose oxide) to $589.10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (geranylacetone). In our study, we determined two terpenes in the Polish wines produced from Cabernet Cortis and from a combination of Cabernet Dorsa, Zweigelt, Rondo and Regent – linalool at higher concentrations ($1.05 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ in Chinese wines) and citronellol at similar concentrations ($5.00 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ in Chinese wines) (Table 1). Phenols and phenolic aldehydes concentrations ranged from 0.90 (4-propylguaiaicol) to $1950 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (4-vinylphenol). One phenol, 4-ethylphenol, was determined in both the Polish and Chinese wines at similar concentrations ($16.99 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ in Chinese wines) (Table 1) [22]. Zhao et al. [31] determined 14 terpenes in litchi wine. Their concentrations ranged from $6.54 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ((1S)-(1)-beta-pinene) to $5662.18 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (D-citronellol). Cis-rose oxide, citronellol and linalool were determined in both studies, concentrations in the Polish wines were lower than in litchi wine. Nerol oxide was determined in both studies at comparable concentrations (Table 1) [31]. Issa-Issa et al. [13] determined four phenolic compounds in Fondillón – guaiacol, phenol, ethyl guaiacol and 4-ethylphenol. Two of them were also found in the Polish red wines – 4-ethylphenol was determined at higher concentrations in the Polish red wine, ethyl guaiacol was determined at comparable concentrations (Table 1) [13]. Fandiño et al. [7] determined two terpenes – nerol and hotrienol and one phenol – 4-vinylguaiaicol in Albariño wine. The concentrations ranged from 18 to $109 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. None of those compounds were analyzed in the Polish white wines. Lan et al. [15] determined three phenols – 4-vinylguaiaicol ($2917 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), eugenol ($12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and guaiacol ($5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) in sweet Petit Manseng wine, they were not analyzed in the Polish white wines.

Odor activity values in Polish wines

Odor activity value (OAV) is calculated as a ratio of determined concentrations of a compound and its odor detection threshold (ODT). The higher odor activity value of a compound is, the bigger influence that compound has on the aroma profile of wine [29]. Odorants that occur at concentrations higher than their ODT values, meaning $OAV > 1$, contribute to the wine aroma and are called aroma impact compounds [31]. We calculated OAVs for 41 volatile compounds – four acids, 12 alcohols, 14 esters and 11 other compounds (Table 2).

Table 2. Odor description, threshold and activity value (OAV) of compounds determined in Polish white and red wines

Tabela 2. Opis zapachu, próg zapachowy i wartość aktywności zapachowej związków oznaczonych w polskich białych i czerwonych winach

Compound / Związek	Odor description* / Opis zapachu*	Odor threshold* / Próg zapachowy [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	White wines (n = 18) / Białe wina (n = 18)	Red wines (n = 13) / Czerwone wina (n = 13)
			Min – Max; Mean / Min – Maks; Średnia	Min – Max; Mean / Min – Maks; Średnia
Acids / Kwasy				
hexanoic / heksanowy	Cheese, rancid, fatty, sweat, barbecue / Ser, zjełczały, tłusty, pot, grill	420.00	< 0.01 – 1.09; 0.69	0.29 – 0.76; 0.52
octanoic / oktanowy	Cheese, rancid, fatty, sweat / Ser, zjełczały, tłusty, pot	500.00	0.85 – 1.84; 1.37	0.30 – 1.29; 0.68
decanoic / dekanowy	Rancid, fatty / Zjełczały, tłusty	1000.00	0.02 – 0.21; 0.08	0.01 – 0.08; 0.03
acetic / octowy	Vinegar / Ocet	200000.00	< 0.01	< 0.01
Alcohols / Alkohole				
1-pentanol / 1-pentanol	Alcohol, pungent, almond, synthetic, balsamic / Alkohol, gryzący, migdał, syntetyczny, balsamiczny	80000.00	< 0.01	< 0.01
2,3-butanediol / 2,3-butanodiol	Fruity / Owocowy	150000.00	< 0.01	< 0.01
3-methyl-1-pentanol / 3-metylo-1-pentanol	Wine, herbaceous, cacao / Wino, zielny, kakao	50000.00	< 0.01	< 0.01
3-hexen-1-ol / 3-heksen-1-ol	Grass, herbaceous, green, fatty, bitter / Trawa, zielny, zielony, tłusty, gorzki	70.00	0.06 – 0.39; 0.19	0.10 – 0.55; 0.28
1-hexanol / 1-heksanol	Resin, floral, green, cut grass, herbaceous, wood / Żywica, kwiatowy, zielony, święta trawa, zielny, drewno	8000.00	0.04 – 0.12; 0.08	0.07 – 0.20; 0.13
1-octen-3-ol / 1-okten-3-ol	Mushroom / Grzyb	18.00	< 0.01	< 0.01 – 0.74; 0.47
2-ethyl-1-hexanol / 2-etylo-1-heksanol	Rose, green, floral / Róża, zielony, kwiatowy	900.00	0.01 – 0.12; 0.04	< 0.01 – 0.25; 0.08
1-octanol / 1-oktanol	Jasmine, lemon / Jaśmin, cytryna	110.00	0.06 – 0.40; 0.22	0.27 – 0.50; 0.38
2-phenylethanol / 2-fenyletanol	Rose, floral, honey, pollen, perfume / Róża, kwiatowy, miód, pyłek, perfumowy	1100.00	0.32 – 1.25; 0.69	0.59 – 1.83; 1.07
1-nonanol / 1-nonanol	Rose, orange / Róża, pomarańcz	50.00	< 0.01	< 0.01 – 0.56; 0.34
3-methyl-1-butanol / 3-metylo-1-butanol	Wine, solvent, bitter / Wino, rozpuszczalnik, gorzki	7000.00	0.45 – 0.94; 0.67	0.60 – 1.02; 0.83
3-methyl-3-buten-1-ol / 3-metylo-3-buten-1-ol	Apple / Jabłko	600.00	< 0.01	< 0.01 – 0.01; 0.01
Esters / Estry				
ethyl butanoate / butanian etylu	Apple, banana, pineapple, strawberry, fruity, sweet / Jabłko, banan, ananas, truskawka, owocowy, słodki	20.00	1.88 – 7.08; 3.35	1.06 – 4.58; 2.16
ethyl lactate / mleczan etylu	Acid, medicine, lactic / Kwas, leki, mleczny	154636.00	< 0.01	< 0.01

ethyl 2-methylbutanoate / 2-metylobutanian etylu	Fruity, green apple, anise / Owocowy, zielone jablko, anyż	18.00	< 0.01	< 0.01 – 10.33; 5.93
ethyl 3-methylbutanoate / 3-metylobutanian etylu	Fruity, banana / Owocowy, banan	3.00	< 0.01	< 0.01 – 28.80; 11.90
3-methyl-1-butyl acetate / octan 3-metylo-1-butylu	Banana, pineapple, strawberry / Banan, ananas, truskawka	200.00	1.96 – 8.18; 5.13	< 0.01 – 6.25; 3.14
methyl hexanoate / heksanian metylu	Pineapple / Ananas	70.00	0.03 – 0.46; 0.19	< 0.01 – 0.15; 0.13
ethyl hexanoate / heksanian etylu	Apple, green apple, fruity, banana, wine, brandy / Jablko, zielone jablko, owocowy, banana, wino, brandy	14.00	11.21 – 33.12; 20.51	< 0.01 – 18.73; 10.76
hexyl acetate / octan heksylu	Grape, apple, pear, floral, green, cherry, anise / Winogrono, jablko, gruszka, kwiatowy, wiśnia, anyż	670.00	< 0.01 – 0.23; 0.07	< 0.01 – 0.01; 0.01
diethyl succinate / bursztynian dietylu	Wine, fruity, cheese, earthy, spicy / Wino, owocowy, ser, ziemny, przyprawy	1200.00	< 0.01 – 0.47; 0.18	0.10 – 0.99; 0.42
ethyl octanoate / oktanian etylu	Sweet, floral, fruity, banana, pear, brandy, pineapple / Słodki, kwiatowy, owocowy, banan, gruszka, brandy, jablko	250.00	0.66 – 3.05; 1.48	0.31 – 1.31; 0.86
2-phenethyl acetate / octan 2-fenetylu	Floral / Kwiatowy	250.00	0.05 – 0.69; 0.25	< 0.01 – 0.47; 0.16
ethyl decanoate / dekanian etylu	Pineapple, floral, fruity, fatty, pleasant / Ananas, kwiatowy, owocowy, tłusty, przyjemny	200.00	< 0.01	< 0.01 – 0.07; 0.04
ethyl acetate / octan etylu	Pineapple / Ananas	7500.00	0.11 – 0.20; 0.15	0.18 – 0.32; 0.24
isobutyl acetate / octan izobutylu	Fruity, apple, banana / Owocowy, jablko, banan	1600.00	< 0.01	< 0.01 – 0.01; 0.01
Other compounds / Pozostałe związki				
furfural / furfural	Caramel / Karmel	3000.00	< 0.01 – 0.02; 0.01	< 0.01 – 0.04; 0.02
benzaldehyde / benzaldehyde	Sweet, fruity, roasted, almond, fragrant, burnt sugar / Słodki, owocowy, pieczony, migdał, pachnący, palony cukier	350.00	< 0.01	< 0.01 – 1.47; 0.55
nonanal / nonanal	Fatty, citrus, green, fruity / Tłusty, cytrus, zielony, owocowy	1.00	< 0.01	< 0.01 – 7.10; 7.10
linalool / linalol	Floral, citrus, sweet, grape, fresh / Kwiatowy, cytrus, słodki, winogrono, świeży	15.00	0.76 – 7.95; 3.46	< 0.01 – 14.24; 7.59
citronellol / cytronelol	Clove, rose / Goździk, róża	100.00	< 0.01 – 0.23; 0.07	< 0.01 – 0.07; 0.06
nerol oxide / tlenek nerolu	Rose, oil, floral / Róża, olejek, kwiatowy	6000.00	< 0.01 – 0.03; 0.01	< 0.01
β-damascenone / β-damascenon	Apple, smoky, toasted bread, clove, woody / Jablko, dymny, pieczony chleb, goździk, drewno	0.50	< 0.01	< 0.01 – 108.86; 108.86
cis-rose oxide / tlenek cis-rózy	Rose, floral / Róża, kwiatowy	20.00	< 0.01 – 0.85; 0.44	< 0.01
α-terpineol / α-terpineol	Fruity, floral / Owocowy, kwiatowy	250.00	0.04 – 0.37; 0.14	< 0.01
2-octanone / 2-oktanon	Hot milk, peanut, green / Gorące mleko, orzeszki ziemne, zielony	250.00	< 0.01	< 0.01 – 0.04; 0.04
whiskey lactone / lakton whisky	Fruity, cocoa / Owocowy, kakao	6.00	< 0.01	< 0.01 – 2.14; 1.56

Explanatory notes / Objaśnienia:

* odor description and odor threshold values / opis zapachu i wartości progów zapachowych [28, 31].

We determined OAVs above 1 for 15 compounds, seven of them were found in both white and red wines, one extra in the white wines and seven extra in the red wines. The results obtained showed differences between the wines, taking into account their color. OAVs of ethyl butanoate were higher than 1 in all 31 analyzed wine samples and OAVs of 3-methyl-1-butyl acetate and ethyl hexanoate were higher than 1 in all 18 analyzed white wine samples. For the white wines, the highest OAVs were cal-

culated for ethyl hexanoate, 3-methyl-1-butyl acetate and ethyl butanoate, for the red wines – β -damascenone, ethyl 3-methylbutanoate and ethyl hexanoate. All these odorants have fruity aromas, just like almost all wines we analyzed in this study.

As presented in Figure 2 and 3, the Polish wines were characterized mainly by the fruity, floral, fatty and sweet odors (Fig. 2 and 3) and to a lesser extent by other aromas, like herbaceous, spicy, roasty, earthy and caramelized (Fig. 2). Moreover, to visually present aroma fingerprints and show similarities between the aromas of the Polish wines, we presented the highest and mean OAVs in the form of an aroma wheel, which confirms the predominance of fruity aromas (Fig. 3).

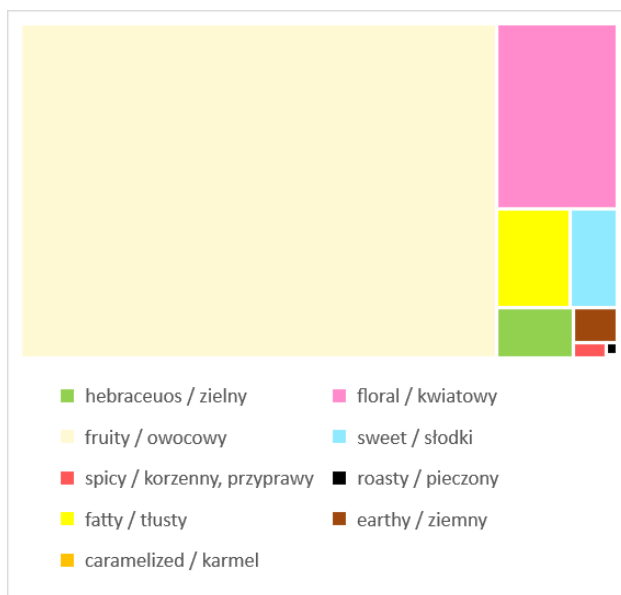


Fig. 2. Aroma map in Polish wines based on OAVs for 41 volatile compounds (as the sum of the average values for a given aroma)

Rys. 2. Mapa aromatów w polskich winach na podstawie wartości OAVs dla 41 związków lotnych (jako suma wartości średnich dla danego aromatu)



Fig. 3. OAV aroma wheel for the average and highest values of OAVs of analyzed compounds in Polish wines

Rys. 3. Wykres koła zapachowego OAV dla średnich i najwyższych wartości OAV analizowanych związków w polskich winach

Conclusions

1. VOC profiles of the Polish wines were presented mostly by esters (32), alcohols (28), volatile acids (14) and carbonyl compounds (13). Minor occurrence was determined for terpenoids (7), volatile phenols (3), ethers (2), volatile sulfur compounds (2), hydrocarbons (1) and norisoprenoids (1).
2. According to the type of wine, we determined 94 volatile compounds in 13 red wines and 53 volatile compounds in 18 white wines. Not all analyzed compounds were determined in every wine sample.
3. The odor activity values (OAVs) were calculated for 41 odorants and 15 of them had values above 1. Based on the determined OAVs, it was observed that the most characteristic aromas in all the wines were as follows: first of all –fruity, next –floral, and finally –fatty and sweet.
4. The results obtained show the difference in wine composition between the white and red wines, the influence of grape varieties used and confirm that the quality of wine is connected with “terroir”, a set of characteristics of a given place, its geographic, geological and climatic impact.

References

- [1] Alañón M.E., Pérez-Coello M.S., Marina M.L.: Wine science in the metabolomics era. *Trends Anal. Chem.*, 2015, 74, 1-20.
- [2] Aznar M., López R., Cacho J.F., Ferreira V.: Identification and Quantification of Impact Odorants of Aged Red Wines from Rioja. GC-Olfactometry, Quantitative GC-MS, and Odor Evaluation of HPLC Fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49(6), 2924-2929.
- [3] Benkwitz F., Nicolau L., Lund C., Beresford M., Wohlers M., Kilmartin P.A.: Evaluation of Key Odorants in Sauvignon Blanc Wines Using Three Different Methodologies. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60(25), 6293-6302.
- [4] Boninoa M., Schellinoa R., Rizzib C., Aigottic R., Delfinia C., Baiocchic C.: Aroma compounds of an Italian wine (Ruche') by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. *Food Chem.*, 2003, 80, 125-133.
- [5] Chen L., Capone D.L., Jeffery D.W.: Identification and Quantitative Analysis of 2-Methyl-4-propyl-1,3-oxathiane in Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 2018, 66(41), 10808-10815.
- [6] European Union: Council Regulation (EC) No 491/2009 of 25 May 2009 amending Regulation (EC) No 1234/2007 establishing a common organisation of agricultural markets and on specific provisions for certain agricultural products.
- [7] Fandiño M., Vilanova M., Caldeira I., Silvestre J.M., Rey B.J., Mirás-Avalos J.M., Cancela J.J.: Chemical composition and sensory properties of Albariño wine: Fertigation effects. *Food Res Int.*, 2020, 137, #109533.
- [8] Feng H., Skinkis P.A., Qian M.C.: Pinot noir wine volatile and anthocyanin composition under different levels of vine fruit zone leaf removal. *Food Chem.*, 2017, 214, 736-744.
- [9] Feng Y., Liu M., Ouyang Y., Zhao X., Ju Y., Fang Y.: Comparative study of aromatic compounds in fruit wines from raspberry, strawberry, and mulberry in central Shaanxi area. *Food Nutr. Res.*, 2015, 59(1), #29290.
- [10] Floch M., Shinkaruk S., Darriet P., Pons A.: Identification and Organoleptic Contribution of Vanillylthiol in Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2016, 64(6), 1318-1325.
- [11] Garbay J., Cameleyre M., Riquier L., Barbe J.-C., Lytra G.: Development of a New Method for the Quantitative Analysis of Aroma Compounds Potentially Related to the Fruity Aroma of Red Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2023, 71(35), 13066-13078.
- [12] Hjelmeland A.K., King E.S., Ebeler S.E., Heymann H.: Volatile Profiling of U.S. Cabernet Sauvignon Wines Using HS-SPME and the Agilent 5975 Series GC/MSD System: Relating the Chemical Profile to Sensory Properties. In: *Application Note Agilent Technologies, Inc.* 2013.
- [13] Issa-Issa H., Guclu G., Noguera-Artiaga L., López-Lluch D., Poveda R., Kelebek H., Selli S., Carbonell-Barrachina A.A.: Aroma-active compounds, sensory profile, and phenolic composition of Fondillón. *Food Chem.*, 2020, 316, #126353.
- [14] Izajasz-Parchańska M., Ciach M., Tuszyński T.: Monitoring parametrów dojrzałości technologicznej winogron na terenie małopolskiej winnicy Srebrna Góra, w sezonie wegetacyjnym 2012. *Acta Agrophys.*, 2014, 21(3), 263-278.
- [15] Lan Y., Guo J., Qian X., Zhu B., Shi Y., Wu G., Duan C.: Characterization of key odor-active compounds in sweet Petit Manseng (*Vitis vinifera* L.) wine by gas chromatography-olfactometry, aroma reconstitution, and omission tests. *J Food Sci.*, 2021, 86(4), 1258-1272.
- [16] Lee S.-J., Noble A.C.: Characterization of Odor-Active Compounds in Californian Chardonnay Wines Using GC-Olfactometry and GC-Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51(27), 8036-8044.

- [17] Longo R., Pearson W., Merry A., Solomon M., Nicolotti L., Westmore H., Dambergs R., Kerslake F.: Preliminary Study of Australian Pinot Noir Wines by Colour and Volatile Analyses, and the Pivot© Profile Method Using Wine Professionals. *Foods*, 2020, 9(9), #1142.
- [18] Malherbe S., Watts V., Nieuwoudt H.H., Bauer F.F., du Toit M.: Analysis of Volatile Profiles of Fermenting Grape Must by Headspace Solid-Phase Dynamic Extraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry (HS-SPDE GC-MS): Novel Application To Investigate Problem Fermentations. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57(12), 5161-5166.
- [19] Mayr C.M., Geue J.P., Holt H.E., Pearson W.P., Jeffery D.W., Francis L.: Characterization of the Key Aroma Compounds in Shiraz Wine by Quantitation, Aroma Reconstitution, and Omission Studies. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62(20), 4528-4536.
- [20] Nicolotti L., Mall V., Schieberle P.: Characterization of Key Aroma Compounds in a Commercial Rum and an Australian Red Wine by Means of a New Sensomics-Based Expert System (SEBES)—An Approach To Use Artificial Intelligence in Determining Food Odor Codes. *J. Agric. Food Chem.*, 2019, 67(14), 4011-4022.
- [21] Perestrelo R., Fernandes A., Albuquerque F.F., Marques J.C., Camara J.S.: Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. *Anal. Chim. Acta*, 2006, 563, 154-164.
- [22] Qian X., Jia F., Cai J., Shi Y., Duan C., Lan Y.: Characterization and Evolution of Volatile Compounds of Cabernet Sauvignon Wines from Two Different Clones during Oak Barrel Aging. *Foods*, 2022, 11(1), #74.
- [23] Somkuwar R.G., Sharma A.K., Kambale N., Banerjee K., Bhanghe M.A., Oulkar D.P.: Volatome finger printing of red wines made from grapes grown under tropical conditions of India using thermal-desorption gas chromatography–mass spectrometry (TD–GC/MS). *J Food Sci Technol.*, 2020, 57(3), 1119-1130.
- [24] Sonni F., Moore E.G., Chinnici F., Riponi C., Smyth H.E.: Characterisation of Australian Verdelho wines from the Queensland Granite Belt region. *Food Chem.*, 2016, 196, 1163-1171.
- [25] Versini G., Dellacassa E., Carlin S., Fedrizzi B., Magno F.: Analysis of Aroma Compounds in Wine. In: *Hyphenated Techniques in Grape and Wine Chemistry*. Eds. R. Flamini. John Wiley & Sons, 2008, pp. 173-225.
- [26] Vilanova M., Rodríguez I., Canosa P., Otero I., Gamero E., Moreno D., Talaverano I., Valdés E.: Variability in chemical composition of *Vitis vinifera* cv Mencía from different geographic areas and vintages in Ribeira Sacra (NW Spain). *Food Chem.*, 2015, 169, 187-196.
- [27] Wang J., Capone D.L., Wilkinson K.L., Jeffery D.W.: Chemical and sensory profiles of rosé wines from Australia. *Food Chem.*, 2016, 196, 682-693.
- [28] Wei Z., Liu X., Huang Y., Lu J., Zhang Y.: Volatile aroma compounds in wines from Chinese wild/hybrid species. *J Food Biochem.*, 2019, 43(10), #e12684.
- [29] Wine aroma during aging – Part 2: Terpenes. [on line]. Iowa State University, S. Rice. Internet access [09.08.2023]: <https://www.extension.iastate.edu/wine/wine-aroma-during-aging-part-2-terpenes/>
- [30] Xie S., Hu F., Song C., Xi Z., Zhang Z.: Aromatic profiles of young wines from berries at different heights on grapevines. *Food Sci. Technol. (Campinas)*, 2016, 36(2), 248-258.
- [31] Zhao L., Ruan S., Yang X., Chen Q., Shi K., Lu K., He L., Liu S., Song Y.: Characterization of volatile aroma compounds in litchi (Heiye) wine and distilled spirit. *Food Sci. Nutr.*, 2021, 9(11), 5914-5927.


- [32] Ziółkowska A., Wąsowicz E., Jeleń H.H.: Differentiation of wines according to grape variety and geographical origin based on volatiles profiling using SPME-MS and SPME-GC/MS methods. *Food Chem.*, 2016, 213, 714-720.

CHARAKTERYSTYKA PROFILU LOTNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH W POLSKICH WINACH PRZY WYKORZYSTANIU GC-MS

Streszczenie

Wprowadzenie. Wino jest skomplikowaną mieszaniną wielu związków o zróżnicowanej budowie i właściwościach. Wiele czynników wpływa na chemiczny skład wina. Uprawa winorośli w Polsce jest w niekorzystnej, trudniejszej sytuacji, w porównaniu do bardziej tradycyjnych regionów winiarskich. Winogrona rosnące w Polsce mają niższą zawartość cukru, co prowadzi do niższej zawartości alkoholu i wyższej kwasowości wyprodukowanego wina, co może być także uznawane za zaletę. Związki aromatyczne, które są przedmiotem badania, razem z innymi czynnikami, wpływają na smak i aromat wina.

Wyniki i wnioski. Praca prezentuje wyniki analizy i charakterystyki profilu aromatycznego polskich win, wykonanej z użyciem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS). Wykryliśmy 94 związki lotne w 13 czerwonych winach i 53 lotne związki w 18 białych winach, w tym następujące grupy związków: alkohole, kwasy, estry, związki karbonylowe, eter, terpenoidy, norisoprenoidy, fenole, związki siarkowe i węglowodory. Wina były wyprodukowane z różnych odmian winogron. Porównanie otrzymanych wyników, zarówno pomiędzy wynikami otrzymanymi w naszym badaniu, a także z wynikami otrzymanymi w innych badaniach, pokazało różnice w składzie win, w oparciu o różne czynniki. Wartości aktywności zapachowej (OAV) zostały obliczone by określić dominujący aromat analizowanych win, im wyższa wartość aktywności zapachowej danego związku, tym większy jest jego wpływ na aromat wina.

Słowa kluczowe: GC-MS, współczynnik aktywności zapachowej, polskie wina, lotne związki 

IRENEUSZ OCHMIAN, FRYDERYK SIKORA, MAŁGORZATA GAŁCZYŃSKA,
SABINA LACHOWICZ-WIŚNIEWSKA

EIGHT OLD CULTIVARS OF APPLE TREES – AN EVALUATION OF THEIR POTENTIAL FOR USE BY THE PROCESSING INDUSTRY

S u m m a r y

Background. Fruit of old cultivars may contain more micro- and macronutrients and polyphenols than modern tree cultivars. This paper presents the results of a study on eight old cultivars of apple trees. The fruit was gathered in the Wolin National Park (Woliński Park Narodowy) from old uncultivated trees.

Results and conclusions. Despite the lack of tree care, the fruit of all the cultivars studied contained small amounts of harmful heavy metals and nitrates. Different criteria are used to evaluate fruit by consumers and the processing industry. For consumers, taste is important, and a low sugar-to-acid ratio makes fruit much tastier. The Roter Herbstkalvill cultivar, despite containing the least sugar of all the cultivars tested, has the lowest sugar-to-acid ratio (3.3). The highest content of health-promoting polyphenolic compounds was found in the fruit of the following cultivars: Roter Herbstkalvill (734 mg/100 g DM) and Kaiser Alexander (701 mg/100 g DM). Due to their high dry matter content, the Geflammtter Kardinal and Boikenapfel cultivars will be the best choice for the processing industry. Whereas cultivars with a low sugar content, which caramelizes at high temperatures - Roter Herbstkalvill and Weisser Winterkalvill - will be useful for flour production and baking.

Key words: polyphenolic compounds, color, mineral content, sugars, acids

Introduction

Apple trees for a long time have been a valued part of town, country, field and home garden landscapes. They enrich people's diets and provide refuge and food for animals. They occur as cultivated forms, wild trees or can be found in abandoned human settlements as feral forms of once cultivated trees. There are several thousand cultivars of apple trees, but industrially cultivated ones are mainly disease-resistant and

Dr hab. inż., prof. ZUT I. Ochmian ORCID: 0000-0002-3606-1927; mgr inż. F. Sikora ORCID: 0000-0002-3384-6462; Katedra Ogrodnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin; dr hab. inż., prof. ZUT, M. Gałczyńska ORCID: 0000-0002-0796-0528, Katedra Bioinżynierii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin; dr hab. S. Lachowicz-Wiśniewska ORCID: 0000-0001-6182-0211, Wydział Medyczny i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Kaliski, ul. Nowy Świat 4, 62-800 Kalisz. Kontakt: e-mail: iochmian@zut.edu.pl

the most prolific cultivars. Their fruit is usually characterized by high weight [1]. Nowadays, when it comes to the industry, the economic result is the most important [12, 18]. Historically, fruit has had several uses in the kitchen, ripening at different times and being stored even until spring. It was used for a range of culinary purposes. Apple cultivars came to Poland from various parts of the world. This is due to historical conditions. In the west, there are numerous cultivars imported from Western Europe, mainly of German origin. In the eastern part of the country, there are cultivars of Russian provenance [31].

In forests and national parks, it is still possible to find abandoned human settlements together with old orchards or domestic plantings. Often, only the foundations of houses have remained and there is no trace of the vegetation of the time, but trees can survive for many years even competing with the successional vegetation. In such places, old apple cultivars can be found. The Wolin National Park (Woliński Park Narodowy), from which the samples for this study were taken, is one of such locations. Apple trees found in such places have not only been able to survive for many years in a feral form, but also still bear fruit.

It is an excellent object for a study on old cultivars that are not yet as severely genetically mixed as in modern crops, while not being fertilized. This indicates the high resistance of these cultivars. Studying old apple cultivars can be useful in the process of improving the quality of modern food by producing apples of this type or creating new cultivars with them. It has been shown that the fruit of old apple cultivars has often a better taste, aroma and nutritional qualities compared to contemporary mass-grown cultivars [6, 8]. Apples are a source of carbohydrates, micro and macronutrients, vitamins and fiber [11, 32]. Apples can enrich our daily diet with micro and macronutrients that are essential for the proper functioning and development of the human body. They are characterized by a great variability in the abundance of micro and macronutrients. However, by selecting the right cultivars for diets, we can choose the most beneficial ones [7, 23].

There are some micro and macronutrients that play an important role in the body. For example, iron, copper, zinc or manganese have antioxidant effects. In addition, zinc can prevent certain diseases and disorders of the human body. It ensures a good balance of minerals. Many people are found to be deficient in calcium or iron, among others, which proves that more attention should be paid to a balanced diet and functional foods [2, 3, 17]. A large group of plant metabolites are polyphenols, with high health-promoting qualities [13, 18]. Some compounds can increase the disease resistance of apples, which is particularly important with a today's economic approach to cultivation [4, 40].

The present study aims to determine the content of micro and macronutrients, sugars, acidity, pectins and phenolic compounds of fruit from eight old apple cultivars.

In this way, it can be determined which of the studied cultivars would be potentially suitable for industrial or local use in food processing.

Material and methods

Characteristics of the area of research and plant material

The fruit was harvested in the Wolin National Park located at the mouth of the Oder River, in the north-western Poland (Zachodniopomorskie Province), close to the border between Poland and Germany. It protects the highly valuable north-western part of Wolin Island. The Park was established in 1960, covering an area of 4,844 ha. It was extended in 1996 by incorporating one nautical mile broad belt of Baltic coastal waters in the north and delta of the Świna River. The inclusion of the part of the Pomeranian Bay and the inner salt waters of the Szczecin Bay has made the Wolin National Park the first maritime park in Poland. The total area of the Park today is 10,937 ha, of which forests cover 4,530 ha (41 %). Six forest communities of the total area of 165 ha (1.5 %) are under strict protection. Within the Park and in the neighboring areas, one can find the remnants of strongholds and other places of historic settlements, which are both subject to scientific research and tourist attractions.

Plant materials

The fruit of eight old apple cultivars collected in the Wolin National Park was used in the study: Weihnachtsapfel (Wapnica), Weisser Winterkalvill (Wapnica), Boikenapfel (Międzyzdroje - Biała Góra), Geflammter Kardinal (Obręb Wodny), Roter Herbstkalvill (Wicko), Lausitzer Nelkenapfel (Wicko), Riesenboiken (Warnowo), Kaiser Alexander were (Warnowo).

The cultivars were initially identified on the basis of fruit and leaf characteristics, based on catalogues and comparative material taken from the collection. Their affinities were confirmed using ISSR. Fruit samples (~5.0 kg each) were collected from trees growing in abandoned human settlements and buildings that are now located within the Wolin National Park.

Determination of color

The pigment measurement (color) of the fruit (skin and pulp) was analyzed in a transmitted mode evaluated by the spectrophotometer Konica Minolta CM-700d method tested in CIE $L^*a^*b^*$ system, as described by Chelpiński et al. [5]. Measurements were taken with an aperture diameter of 8 mm, through a 10° observer type and D65 illuminant. The a^* value showed the place of appearing in the color gamut, in the range from green to red ($+a^*$ means redness; $-a^*$ means greenness) on the surface of dried fruits of analyzed genotypes. The b^* parameter described the color in the range from yellow to blue ($+b^*$ means yellow; $-b^*$ means blue) on the skin and pulp of the tested

cultivars. Measurements were taken on fresh fruit in 50 replicates for skin and flesh for each cultivar.

General fruit parameters

Nitrate content was measured with an RQflex 10 requantometer (Merck, Darmstadt, Germany) [19]. Measurements were taken on fresh fruit in five repetitions. Pectin content was analyzed using the Morris method described by Pijanowski et al. [28]. Measurements were taken on dried fruit in three repetitions.

Drying conditions

Fruit was cut into 5 mm thick slices and dried in PROMIS- μ LAB's microwave-convection drying (MW-CD) with microwave power of 220 W and a maximum temperature of 60 °C. The air flow was perpendicular to the material layer, with a velocity of approximately 3.5 m/s. Homogeneous powders from dried fruit were prepared in a closed laboratory mill to avoid hydration. Then the water content of the fruit was examined. Dry fruit according to PN-90/A- 75101/03 [29] was determined in fresh and dried fruit.

Chemical analysis

Identification of mineral contents

The contents of elements in fruit were determined after mineralization: N, P, K, and Ca were determined after wet mineralization in H₂SO₄ (96 %, Chempur, Poland) and HClO₄ (70 %, Chempur, Poland), whereas Cu, Zn, Mn, Fe, P b, Cd and Al were determined after mineralization in HNO₃ (65 %) and HClO₄ (70 %) in the ratio of 3:1 (IUNG, 1990). The total N concentration was determined by the Kjeldahl distillation method, and N-NO₃ and N-NH₄ were determined potentiometrically. The K content was measured using atomic emission spectrometry, whereas the content of Mg, Ca, Cu, Zn, Mn, and Fe was measured using flame atomic absorption spectroscopy. Phosphorus (P) was assessed by the colorimetric method with a Specol 221 apparatus (Carl Zeiss, Germany). The concentration of selenium in the apples was determined using Watkinson's spectrofluorometric method [38], modified by Grzebuła and Witkowski [15]. Dry fruit was digested in HNO₃ at 230 °C for 180 minutes and in HClO₄ at 310 °C for 20 minutes. Subsequently, the samples were hydrolyzed with 9 % HCl. Selenium was derivatized with 2,3-diaminonaphthalene (Sigma-Aldrich) and the complex was extracted into cyclohexane. Se concentration was measured fluorometrically using an RF-5001 PC Shimadzu spectrophotofluorometer (Japan). The excitation wavelength was 376 nm, and the fluorescence emission wavelength was 518 nm. Measurements were taken on dry fruit in three repetitions.

Identification of phenolic compounds, sugar and acidity

The materials were extracted with methanol acidified with 2.0 % formic acid (phenolic compounds) or redistilled water (sugar and acidity). The separation was conducted twice by incubation for 20 minutes at 20 °C under sonication (Sonic 6D, Polsonic, Warsaw, Poland) followed by shaking from time to time (a few times or rarely). Subsequently, the suspension was centrifuged MPW-251 (MPW MED. INSTRUMENTS, Warsaw, Poland) at 19,000×g for 10 minutes. Before analysis, the supernatant was additionally purified with a Hydrophilic PTFE 0.20 µm membrane (MillexSimplicity Filter, Merck). All extractions were carried out in triplicate.

Qualitative (LC–Q–TOF–MS, Waters, Manchester, UK) and quantitative (ACQUITY Ultra Performance LC system equipped with a photodiode array detector with a binary solvent manager (Waters Corporation, Milford, MA, USA) analyses of polyphenols were performed as described previously by Oszmiański et al. [25]. Separations of individual polyphenols were carried out using a UPLC BEH C18 column (1.7 µm, 2.1 × 100 mm, Waters Corporation, Milford, MA) at 30 °C. The samples (10 µL) were injected, and the elution was completed in 15 minutes with a sequence of linear gradients and isocratic flow rates of 0.45 cm³/min. The mobile phase consisted of solvent A (2.0 % formic acid, v/v) and solvent B (100 % acetonitrile). The program began with isocratic elution with 99% solvent A (0 ÷ 1 min), and subsequently, a linear gradient was used until 12 minutes, lowering solvent A to 0%; from 12.5 to 13.5 minutes, the gradient returned to the initial composition (99 % A), and subsequently, it was held constant to re-equilibrate the column. All measurements were repeated three times. The results were expressed as mg per 100 g of dry matter (DM).

An analysis of sugar by the HPLC-ELSD method was performed according to the protocol described by Oszmiański and Lachowicz [24]. The samples of apple fruit (1 ÷ 2 g) were diluted with redistilled water (50 cm³). The extraction was performed by incubation for 15 minutes under sonication (Sonic 6D, Polsonic, Warsaw, Poland) and with occasional shaking, and then incubation at 90 °C for 30 minutes. Next, the slurry was centrifuged at 19,000g for 10 minutes, and the supernatant was filtered through a Sep-Pak C-18 Cartridges (Waters Milipore), and through a Hydrophilic PTFE 0.20 µm membrane (Millex Simplicity Filter, Merck) and used for analysis. All extractions were carried out in triplicate. Organic acids were analyzed using high-performance liquid chromatography (LC-20AT; Shimadzu, Kyoto, Japan), a UV–Vis detector, and a data acquisition system fitted with a CAPECELL PAK MG S5 C₁₈ column. The results were expressed as g per 100 g of dry matter (DM).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with Statistica 12.5 (StatSoft Polska, Cracow, Poland). The statistical significance of differences between means was estab-

lished by testing the homogeneity of variance and normality of distribution followed by ANOVA with Tukey's *post hoc* test, significance was set at $p < 0.05$. The results are expressed as means. A multivariate analysis was performed by applying a principal component analysis (PCA). The data was auto-scaled during pre-processing.

Results and discussion

Quality of fresh fruit

Fruit chemical composition is a cultivar feature. Tests carried out showed that the content of individual mineral elements in the tested fruit varied greatly. Nitrogen was the element with the smallest variation in content among the fruits of the studied cultivars. The least amount of nitrogen was contained in the fruit of the Roter Herbstkalvill cultivar, while the highest content, by 37 %, of this element was in the fruit of Kaiser Alexander. Of the macronutrients, the greatest differences, by 78 %, were in the content of P. Much greater variation was in the content of micronutrients. In the case of Mn, it was as high as 160 %. However, in the content of harmful Cd, the differences were as high as 200 %.

Analyzing individual components, the tested cultivars were divided into those accumulating minerals and those with lower mineral content. Among the tested apple cultivars, the following stand out due to their high contents of micro and macro elements: Boikenapfel (P – 0.16 g/100 g, Zn – 5.58 mg/1000 g, Mn – 2.13 mg/100 g), Geflammtter Kardinal (N – 2.44 g/100 g, K – 0.87 g/100 g), Riesenboiken (Ca – 1.35 g/100 g, Se – 1.12 µg/100 g, Cu – 0.50 mg/100 g) and Kaiser Alexander (N – 2.38 g/100 g, Mg – 0.23 g/100 g, Fe – 15.8 mg/100 g). The fruit of the cultivars Weihnachtsapfel and Weisser Winterkalvill proved to be the least rich in micro and macro elements. Roter Herbstkalvill and Lausitzer Nelkenapfel (Table 1).

The apples of these cultivars are rich in minerals, but despite having been harvested from long-abandoned settlements in the Wolin National Park, they are not free of heavy metals. In terms of heavy metal content, the highest concentrations of heavy metals were detected in the fruit of the following cultivars: Weihnachtsapfel (Pb – 0.021 mg/100 g, Cd – 0.0027 mg/100 g, Boikenapfel (Pb – 0.019 mg/100 g), Riesenboiken (Al – 0.73 mg/100 g) and Kaiser Alexander (Pb – 0.020 mg/100 g). The detected values exceed the dietary standards for cadmium: in Weihnachtsapfel fruit by 35 %, Lausitzer Nelkenapfel by 10 %, and Boikenapfel by 5 %. Lead content was exceeded in all the cultivars. However, it should be noted that the heavy metal content depends on the substrate on which trees are grown and this factor can be eliminated in the case of cultivation [9, 10].

Table 1. Macro- and microelements and heavy metals composition of all old apple cultivars (macroelements g/100 g; microelements and heavy metals mg/100 g DM)

Tabela 1. Skład makro- i mikroelementów oraz metali ciężkich wszystkich starych odmian jabłoni (makroelementy g/100 g; mikroelementy i metale ciężkie mg/100 g DM)

Cultivar / Odmiana	Weihnachtsapfel	Weisser Winterkalvill	Boikenapfel	Geflammtter Kardinal	Roter Herbstkalvill	Lausitzer Nelkenapfel	Riesenboiken	Kaiser Alexander
N	2.11 ^c ±0.09	2.23 ^{cd} ±0.11	1.95 ^b ±0.08	2.44 ^e ±0.10	1.78 ^a ±0.07	2.08 ^c ±0.08	2.27 ^d ±0.10	2.38 ^e ±0.11
P	0.12b ^c ±0.004	0.13 ^c ±0.004	0.16 ^d ±0.005	0.10 ^{ab} ±0.003	0.12b ^c ±0.004	0.09 ^a ±0.003	0.11 ^{abc} ±0.004	0.13 ^c ±0.004
K	0.61 ^a ±0.03	0.67 ^{ab} ±0.03	0.73 ^b ±0.03	0.87 ^d ±0.04	0.83 ^{cd} ±0.04	0.72 ^b ±0.02	0.75 ^{bc} ±0.03	0.69 ^{ab} ±0.02
Ca	1.02 ^b ±0.04	0.88 ^a ±0.03	1.15 ^c ±0.05	1.09 ^{bc} ±0.04	0.94 ^a ±0.03	1.24 ^d ±0.05	1.35 ^e ±0.04	1.12 ^c ±0.04
Mg	0.17 ^a ±0.06	0.19 ^{bc} ±0.05	0.16 ^a ±0.04	0.15 ^a ±0.04	0.21 ^{cd} ±0.04	0.20 ^c ±0.05	0.17 ^a ±0.03	0.23 ^c ±0.04
Fe	11.2 ^b ±0.06	8.8 ^a ±0.03	12.6 ^c ±0.06	9.2 ^a ±0.05	10.7 ^b ±0.04	8.9 ^a ±0.04	13.3 ^c ±0.06	15.8 ^d ±0.06
Cu	0.41 ^d ±0.02	0.32 ^b ±0.01	0.36 ^{bc} ±0.01	0.44 ^{de} ±0.01	0.47 ^{ef} ±0.02	0.39 ^{cd} ±0.02	0.50 ^f ±0.03	0.22 ^a ±0.01
Zn	4.52 ^{bcd} ±0.14	3.26 ^a ±0.11	5.58 ^f ±0.17	4.04 ^{bc} ±0.15	4.79 ^{de} ±0.16	3.53 ^a ±0.12	4.56 ^{de} ±0.13	5.01 ^e ±0.15
Mn	0.82 ^a ±0.03	1.67 ^e ±0.05	2.13 ^f ±0.07	0.79 ^a ±0.03	1.24 ^c ±0.04	0.98 ^b ±0.04	1.41 ^d ±0.05	1.04 ^b ±0.04
Al	0.55 ^c ±0.02	0.34 ^a ±0.01	0.61 ^d ±0.02	0.42 ^b ±0.01	0.39 ^b ±0.01	0.51 ^c ±0.02	0.73 ^e ±0.03	0.59 ^{cd} ±0.02
Pb	0.021 ^d ±0.001	0.017 ^c ±0.001	0.019 ^{cd} ±0.001	0.012 ^a ±0.001	0.015 ^b ±0.001	0.011 ^a ±0.001	0.013 ^{ab} ±0.001	0.020 ^d ±0.001
Cd	0.0027 ^e ±0.0001	0.0016 ^b ±0.0001	0.0021 ^{cd} ±0.0001	0.0009 ^a ±0.0000	0.0018 ^{bc} ±0.0001	0.0022 ^d ±0.0001	0.0015 ^b ±0.0001	0.0012 ^a ±0.0001
Se (µg/100 g)	0.97 ^e ±0.04	0.92 ^{de} ±0.04	0.58 ^b ±0.02	0.88 ^d ±0.03	0.46 ^a ±0.02	0.76 ^c ±0.03	1.12 ^f ±0.05	0.54 ^b ±0.02

Explanatory notes / Objasnienia:

a–f mean ± SD followed by different letters within the same line represent significant differences ($p < 0.05$)

średnia a–f ± SD, po której następują różne litery w tej samej linii, oznacza istotne różnice ($p < 0,05$)

Not only basic micronutrients and macronutrients such as iron and magnesium are worth noting. Selenium and zinc also deserve attention. They have antioxidant properties, have a positive effect on glucose metabolism and blood sugar levels and regulate pancreatic function. They also support the body in the fight against many diseases [22]. By far, the highest level of selenium was found in the fruit of the Riesenboiken cultivar – 1.12 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Tab. 1). Its high levels were also observed in Weihnachtsapfel and Weisser Winterkalvill fruit, $0.92 \div 0.97\ \mu\text{g}/100\text{ g}$. The highest amounts of selenium are found in mushrooms and garlic [16]. These were concurrent with the results reported by Pezzarossa et al. [27] for peach and pear leaves and fruit. The analytical results of all apple cultivars for dry weight, pH, pectins, nitrates, sugars and titratable acidity are given in Table 2. Dry matter, pH and pectin content are very important parameters of the fruit that are relevant for processing. Fruit for drying *średnia a–f ± SD, po której następują różne litery w tej samej linii, oznacza istotne różnice ($p < 0,05$)*

should have a high dry matter content. This shortens the drying process and increases the amount of product. The dry matter concentration in the fruit of the analyzed old apple cultivars ranged from 13.6/100 g FM in the Riesenboiken cultivar to 16.7/100 g FM in the case of the Geflammter Kardinal cultivar. These results are similar to those obtained in the studies by Mitre et al. [20] and Oszmiański et al. [25]. In contrast, the cultivar Geflammter Kardinal with its high dry matter content had little pectin (7.13 g/100 g). Only the 'Roter Herbstkalvill' fruit had less pectin (5.08 g/100 g). Boikenapfel and Lausitzer Nelkenapfel apples contained more than twice as much pectin: >12 g/100 g. Pectin occurs naturally in fruit and has health-promoting effects on humans. Apples are fruits that contain high amounts of pectin, which increases their attractiveness [37].

Nitrates influence human health negatively, their excess can cause various diseases [14, 39]. The tested cultivars contain a low amount of nitrates and they mostly meet the strict standards for children's products according to: the European Commission's Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs [10]. The permissible amount of nitrates according to the aforementioned standard is 20 mg/100 g fruits. Only the cultivars Lausitzer Nelkenapfel and Riesenboiken did not meet these requirements, containing 25.2 mg/100 g and 23.7 mg/100 g respectively. However, it is important to note that these are still within the dietary standards for adults. Furthermore, a study from 2020 showed that old apple cultivars, including Riesenboiken, can have much lower levels of nitrate [34].

Table 2. Chemical composition of all old apple cultivars
Tabela 2. Skład chemiczny wszystkich starych odmian jabłoni

Cultivar / Odmiana	Weihnachtsapfel	Weisser Winterkalvill	Boikenapfel	Geflammtter Kardinal	Roter Herbstkalvill	Lausitzer Nelkenapfel	Riesenboiken	Kaiser Alexander
Dry weight / Sucha masa (g/100 g FM)	14.0 ^a ±0.4	15.4 ^{bc} ±0.4	16.2 ^d ±0.3	16.7 ^e ±0.5	15.6 ^c ±0.4	14.9 ^b ±0.3	13.6 ^a ±0.4	15.1 ^{bc} ±0.5
pH	3.69 ^e ±0.15	3.26 ^b ±0.11	3.04 ^a ±0.16	3.48 ^{cd} ±0.09	3.65 ^{de} ±0.12	3.57 ^{cde} ±0.13	3.37 ^{bc} ±0.12	3.05 ^a ±0.10
Pectines / Pektyny (g/100 g DM)	7.19 ^b ±0.32	6.82 ^b ±0.29	11.32 ^d ±0.39	7.13 ^b ±0.35	5.08 ^a ±0.27	11.84 ^d ±0.37	9.92 ^c ±0.30	7.69 ^b ±0.31
Nitrates / Azotany (mg/100 g DM)	19.3 ^d ±1.7	11.0 ^a ±1.2	11.1 ^a ±1.5	14.6 ^b ±1.2	15.8 ^{bc} ±1.6	25.2 ^e ±1.8	23.7 ^e ±2.1	18.0 ^{cd} ±1.5
Sugar / Cukry g/ 100 g DM								
Fructose / Fruktaza	33.6 ^f ±0.63	20.9 ^b ±0.57	30.7 ^e ±0.59	27.7 ^d ±0.44	10.7 ^a ±0.29	29.7 ^{de} ±0.42	20.2 ^b ±0.39	24.8 ^c ±0.38
Glucose / Glukoza	9.35 ^d ±0.21	5.90 ^a ±0.19	7.30 ^b ±0.24	5.25 ^a ±0.17	5.95 ^a ±0.20	14.80 ^f ±0.35	12.25 ^e ±0.33	8.69 ^d ±0.22
Sorbitol / Sorbitol	6.64 ^d ±0.13	3.71 ^b ±0.09	1.73 ^a ±0.06	4.04 ^b ±0.12	4.20 ^b ±0.10	9.68 ^e ±1.07	6.43 ^d ±0.15	5.18 ^c ±0.14
Sucrose / Sacharaza	0.93 ^e ±0.02	0.59 ^b ±0.01	0.73 ^c ±0.02	0.52 ^a ±0.01	0.59 ^b ±0.01	1.48 ^e ±0.03	1.22 ^f ±0.03	0.87 ^d ±0.02
Total / Razem	50.52 ^d	31.15 ^b	40.46 ^c	37.56 ^c	21.40 ^a	55.71 ^e	40.15 ^c	39.55 ^c
Acids / Kwasy (g/100 g DM)								
Shikimic / Szikimowy	0.16 ^e ±0.003	0.15 ^e ±0.003	0.20 ^f ±0.004	0.04 ^b ±0.001	0.07 ^c ±0.002	0.01 ^d ±0.000	0.02 ^a ±0.000	0.09 ^d ±0.002
Citric / Cytrynowy	0.53 ^c ±0.012	0.60 ^d ±0.011	0.20 ^a ±0.009	0.67 ^e ±0.013	0.62 ^d ±0.014	0.22 ^a ±0.008	0.96 ^f ±0.015	0.31 ^b ±0.009
Tartaric / Winowy	0.11 ^b ±0.004	0.14 ^c ±0.004	0.75 ^g ±0.011	0.20 ^e ±0.007	0.17 ^d ±0.006	0.24 ^f ±0.008	0.16 ^{cd} ±0.005	0.07 ^a ±0.004
Malic / Jabłkowy	6.24 ^c ±0.18	6.18 ^{bc} ±0.19	2.74 ^a ±0.06	6.95 ^{cd} ±0.10	5.60 ^b ±0.09	7.84 ^d ±0.12	5.57 ^b ±0.10	9.92 ^e ±0.15
Succinic / Bursztynowy	0.09 ^e ±0.002	0.01 ^a ±0.000	0.05 ^c ±0.001	0.07 ^d ±0.001	0.07 ^d ±0.001	0.03 ^b ±0.000	0.08 ^e ±0.001	0.03 ^b ±0.000
Lactic / Mlekowy	0.06 ^c ±0.001	0.09 ^{de} ±0.001	0.05 ^a ±0.001	0.08 ^d ±0.001	0.05 ^b ±0.000	0.04 ^a ±0.000	0.09 ^e ±0.001	0.04 ^a ±0.000
Total / Razem	7.19 ^c	7.17 ^c	3.99 ^a	8.01 ^d	6.58 ^b	8.38 ^d	6.88 ^{bc}	10.46 ^e
Sugars/acids ratio Stosunek cukry / kwasy	7.0	4.3	10.1	4.7	3.3	6.6	5.8	3.8

Explanatory notes / objaśnienia:

a–f mean ± SD followed by different letters within the same line represent significant differences ($p < 0.05$)

The range of sugars and acid contents determined in old apple cultivars is shown in Table 2. The food industry prefers sweeter fruit for its taste and processing properties. The acid content of the fruit is equally important. They affect the taste of the apples, but also the preserves obtained from them. Due to the need for a balance between sweetness and acidity, the processing industry prefers sour apples [21]. Among the cultivars tested, Roter Herbstkalvill (3.25) and Kaiser Alexander (3.80) have the most favorable sugar/acid ratio. The cultivars with the most unfavorable acid-to-sugar ratio are Weihnachtsapfel (7.03), Boikenapfel (6.76) and Lausitzer Nelkenapfel (6.57).

Fructose, glucose, sorbitol and sucrose, in that order, occurred in the analyzed apples. The sugar content ranged from 21.4 to 55.7 mg/100 g and fructose from 10.7 to 33.6 mg/g (50-76 % sugars) (Fig. 1). The cultivar with the highest glucose content was Riesenboiken (30.51 %), with the least glucose content being found in Geflammtter Kardinal (13.98 %). The smallest sucrose content was found in the fruit: 0.52-1.48 mg/g. Similar proportions of sugars were found in a study by Oszmiański et al. [25].

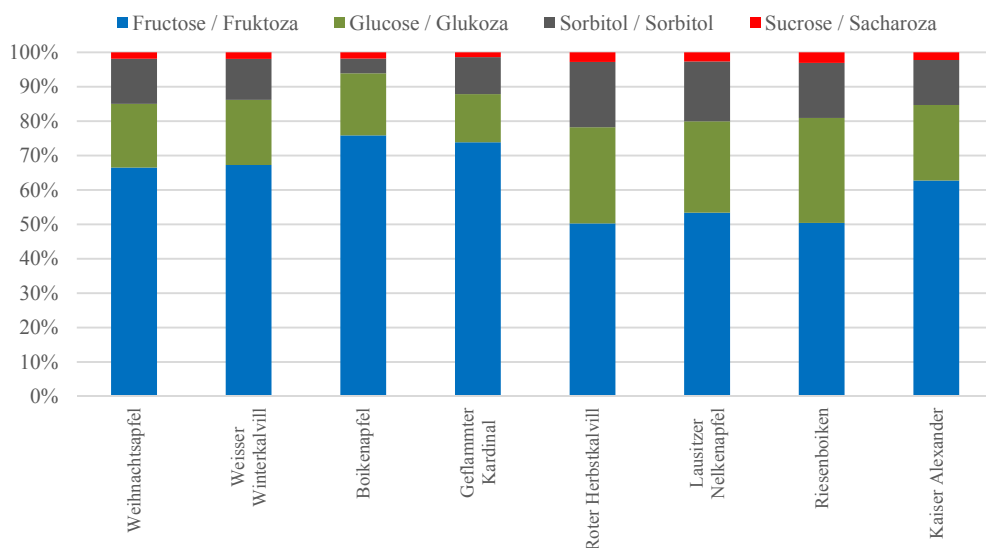


Fig. 1. Percentage of sugars in the old apple cultivars

Ryc. 1. Procentowa zawartość cukrów w starych odmianach jabłek

The amount of sucrose present is significantly influenced by the degree to which the fruit ripens. Glucose is a more preferred sugar than fructose and sucrose for health reasons; it is the most important source of energy for the brain and neurons. The efficient functioning of the nervous system is largely dependent on it [26]. When glucose is metabolized in the liver, the high-energy compound ATP is formed. Out of 120 kcal

of glucose, only 0.5 kcal is converted into fat. In contrast, out of every 120 kcal of fructose, as much as 40 kcal (that is up to 80 times more) will be converted into fat tissue [33].

Phenolic compounds in fruit are responsible for its disease resistance, but also for its taste and health-promoting properties such as antiviral, anticancer, anti-inflammatory or anti-diabetic effects [24]. On average, in apples, the contents of the compounds assigned to each group were: flavan-3-ols (39.37 %), phenolic acids (39.35 %), dihydrochalcones (10.55 %) flavonols (7.09 %) and anthocyanins (3.64 %). The proportion of individual phenolic groups and individual compounds varies significantly between cultivars (Fig. 2).

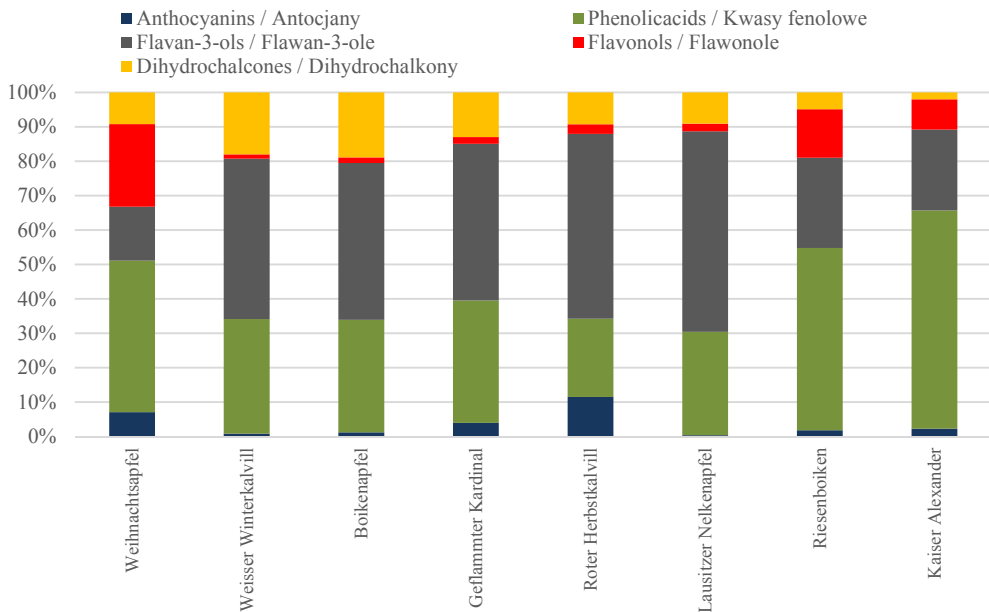


Fig. 2. Percentage concentration of phenolic compounds of old apple cultivars

Ryc. 2. Procentowe stężenie związków fenolowych w starych odmianach jabłek

The highest amount of flavan-3-ols was found in the Roter Herbstkalvill cultivar (394.18 mg/100 g DM), while the lowest was found in the Riesenboiken cultivar (124.62 mg/100 g DM) and the Weihnachtsapfel cultivar (129.05 mg/100 g DM). (+)catechin was predominant in each cultivar, ranging from 106 to 312 mg/100 g (Table 3). The most polyphenolic acids were found in the Kaiser Alexander cultivar (444.58 mg/100g DM), while the least in Boikenapfel (115.09 mg/100 g DM). Among the seven compounds determined in each cultivar, chlorogenic acid predominated (111 ÷ 434 mg/100 g).

Table 3. Concentration of phenolic compounds of all old apple cultivars (mg/100 g DM)

Tabela 3. Stężenie związków fenolowych wszystkich starych odmian jabłek (mg/100 g s.m.)

Compound / Składnik	Weihnachtsapfel	Weisser Winterkalvill	Boikenapfel	Geflammter Kardinal	Roter Herbstkalvill	Lausitzer Nelkenapfel	Winter Goldparmane	Kaiser Alexander
<i>Anthocyanins / Antocyjany</i>								
Cyanidin 3-O-glucoside	6.41 ^c ±0.16	0.00	0.00	4.89 ^a ±0.14	9.03 ^d ±0.21	0.00	0.00	5.52 ^b ±0.13
Cyanidin 3-O-galactoside	47.81 ^g ±1.19	2.75 ^b ±0.07	3.72 ^c ±0.10	11.30 ^f ±0.27	68.36 ^h ±1.58	1.94 ^a ±0.05	7.37 ^d ±0.15	9.84 ^e ±0.20
Cyanidin 3-O-arabinoside	1.77 ^e ±0.04	0.32 ^a ±0.01	0.45 ^{ab} ±0.01	2.07 ^f ±0.06	3.91 ^g ±0.10	0.65 ^{bc} ±0.02	1.16 ^d ±0.03	0.74 ^c ±0.02
Cyanidin 3-O-xyloside	2.30 ^d ±0.06	0.00	0.14 ^a ±0.01	1.18 ^c ±0.04	3.21 ^e ±0.08	0.00	0.19 ^a ±0.01	0.77 ^b ±0.02
Total / Razem	58.29 ^f	3.07 ^{ab}	4.31 ^b	19.44 ^e	84.51 ^g	2.59 ^a	8.72 ^c	16.87 ^d
<i>Phenolic acids / Kwasy fenolowy</i>								
3-O-(4'-O-Caffeoylglucosyl)quinic acid	0.63 ^c ±0.02	0.32 ^b ±0.01	0.40 ^c ±0.01	0.21 ^a ±0.01	0.70 ^c ±0.02	1.86 ^f ±0.04	0.49 ^d ±0.02	1.89 ^f ±0.05
5-O-(3'-O-Caffeoylglucosyl)quinic acid	0.87 ^d ±0.02	0.38 ^c ±0.01	0.30 ^b ±0.01	0.40 ^c ±0.02	1.37 ^f ±0.03	1.72 ^g ±0.04	0.10 ^a ±0.00	1.00 ^e ±0.02
Chlorogenic acid	360 ^g ±7.2	119 ^b ±2.4	111 ^a ±2.2	172 ^d ±4.4	162 ^c ±3.9	182 ^e ±4.2	249 ^f ±5.5	434 ^h ±9.5
Cryptochlorogenic acid	0.09 ^a ±0.00	0.09 ^a ±0.00	0.63 ^e ±0.01	0.30 ^c ±0.01	0.28 ^{bc} ±0.01	0.24 ^b ±0.01	0.42 ^d ±0.01	2.01 ^f ±0.05
Caffeoylglucoside acid	0.77 ^a ±0.02	0.97 ^d ±0.02	0.91 ^c ±0.02	0.86 ^b ±0.02	0.90 ^c ±0.02	0.83 ^b ±0.02	0.87 ^{bc} ±0.02	0.77 ^a ±0.01
Coumaroylquinic acid	0.51 ^c ±0.01	0.67 ^c ±0.01	0.79 ^f ±0.02	0.58 ^d ±0.01	0.38 ^a ±0.01	0.54 ^{cd} ±0.01	0.57 ^d ±0.01	0.45 ^b ±0.01
Coumaroylquinic acid	0.02 ^a ±0.00	0.47 ^d ±0.01	0.81 ^f ±0.02	0.31 ^c ±0.01	0.64 ^e ±0.01	0.15 ^b ±0.01	0.67 ^e ±0.02	3.91 ^g ±0.12
Total / Razem	363.04 ^e	122.38 ^a	115.09 ^a	174.33 ^{bc}	166.76 ^b	187.71 ^c	252.18 ^d	444.58 ^f
<i>Flavan-3-ols / Flawon-3-ole</i>								
(+)-Catechin	106.60 ^a ±2.71	134.08 ^c ±2.43	132.14 ^c ±2.09	196.71 ^d ±4.31	310.56 ^e ±6.42	312.91 ^e ±6.74	116.99 ^b ±2.87	136.15 ^c ±1.95
(-)-Epicatechin	22.02 ^b ±0.49	36.80 ^d ±0.72	27.46 ^c ±0.55	25.59 ^{bc} ±0.57	82.94 ^f ±1.93	50.84 ^e ±1.34	7.22 ^a ±0.17	27.76 ^c ±0.71
Total / Razem	128.6 ^a	170.9 ^b	159.6 ^b	222.3 ^c	393.5 ^e	363.8 ^d	124.2 ^a	163.9 ^b
<i>Flavonols / Flawonole</i>								
Quercetin 3-O-rutinoside	14.79 ^g ±0.30	0.32 ^b ±0.01	0.37 ^c ±0.01	0.47 ^d ±0.01	0.27 ^a ±0.01	0.31 ^b ±0.01	1.12 ^f ±0.02	1.00 ^e ±0.02
Quercetin 3-O-galactoside	16.6 ^e ±0.33	1.40 ^a ±0.03	1.30 ^a ±0.03	3.00 ^b ±0.07	13.62 ^d ±0.29	9.22 ^c ±0.21	50.19 ^g ±1.42	34.87 ^f ±0.68

Quercetin 3- <i>O</i> -glucoside	5.18 ^c ±0.13	0.61 ^a ±0.02	1.23 ^b ±0.03	3.40 ^d ±0.08	4.74 ^d ±0.10	0.64 ^a ±0.02	8.67 ^f ±0.19	16.69 ^g ±0.38
Quercetin 3- <i>O</i> -pentoside	2.15 ^h ±0.04	0.18 ^c ±0.01	0.03 ^a ±0.00	0.34 ^d ±0.01	0.11 ^b ±0.00	0.40 ^e ±0.01	1.03 ^f ±0.03	1.14 ^g ±0.03
Kaempferol 3- <i>O</i> -rutinoside	0.58 ^a ±0.02	1.05 ^{bc} ±0.03	1.04 ^{bc} ±0.03	1.09 ^c ±0.03	0.00	0.99 ^b ±0.02	0.96 ^b ±0.02	1.03 ^{bc} ±0.03
Quercetin 3- <i>O</i> -pentoside	3.62 ^c ±0.09	0.13 ^a ±0.00	0.51 ^c ±0.01	0.09 ^a ±0.00	0.41 ^b ±0.01	0.37 ^b ±0.01	1.54 ^d ±0.03	3.80 ^f ±0.08
Kaempferol 3- <i>O</i> -pentoside	0.63 ^a ±0.01	0.87 ^c ±0.02	1.01 ^{de} ±0.02	0.95 ^d ±0.02	0.75 ^b ±0.02	1.04 ^e ±0.03	1.00 ^{de} ±0.03	1.01 ^{de} ±0.02
Quercetin 3- <i>O</i> -rhamnoside	3.98 ^f ±0.11	0.05 ^a ±0.00	0.22 ^b ±0.01	0.21 ^b ±0.01 b	0.76 ^c ±0.02	0.81 ^c ±0.02	2.56 ^e ±0.08	2.04 ^d ±0.07
Total / Razem	47.53 ^e	4.61 ^a	5.71 ^a	9.55 ^b	20.66 ^d	13.78 ^c	67.07 ^g	61.58 ^f
<i>Dihydrochalcones / Dihydrochalkony</i>								
Phloretin 2'- <i>O</i> -xyloglucoside	50.81 ^f ±1.05	19.37 ^c ±0.42	37.40 ^e ±0.78	37.74 ^e ±0.70	18.25 ^c ±0.36	23.20 ^d ±0.62	11.37 ^b ±0.23	4.13 ^a ±0.12
Phloretin 2'- <i>O</i> -glucoside	25.27 ^c ±0.44	46.68 ^f ±0.94	29.13 ^d ±0.63	25.88 ^c ±0.56	49.61 ^g ±0.89	33.70 ^e ±0.75	11.99 ^b ±0.27	10.11 ^a ±0.25
Total / Razem	76.08 ^e	66.05 ^d	66.53 ^d	63.62 ^d	67.86 ^d	56.9 ^c	23.36 ^b	14.24 ^a
Total / Razem	673.6 ^D	367.0 ^A	351.2 ^A	489.2 ^B	733.3 ^F	624.7 ^C	475.5 ^B	701.2 ^E

Explanatory notes / Objaśnienia:

a–f mean ± SD followed by different letters within the same line represent significant differences ($p < 0.05$)

średnia a–f ± SD, po której następują różne litery w tej samej linii, oznacza istotne różnice ($p < 0,05$)

The content of the other compounds classified as phenolic acids did not exceed 4 mg/100 g. Another group of compounds are dihydrochalcones, which exhibit antioxidant activity, have anti-cancer effects and influence glucose transport [40]. The highest number of dihydrochalcones was found in Weihnachtsapfel (76.08 mg/100 g DM), while the lowest was found in Kaiser Alexander (14.24 mg/100g DM). The highest amount of flavonols characterized the Riesenboiken cultivar (67 mg/100 g DM), while the least flavonols were found in the Weisser Winterkalvill cultivar (4.61 mg/100 g DM).

The highest anthocyanin content was found in the fruit of the cultivar Weihnachtsapfel (58.29 mg/100 g DM), which is characterized by an intense red skin color (Fig. 3). The least amount of anthocyanins was in the poorly colored fruit of Lausitzer Nelkenapfel (2.59 mg/100 g DM) and in the green, blush-free fruit of Weisser Winterkalvill (3.07 mg/100 g DM) (Fig. 2, Fig. 3). Depending on the study, the content of polyphenolic compounds in old apple tree cultivars may be between 1.4 and even 3.0 times higher than that of contemporary cultivars [30, 35, 36, 40]. These results indicate that there is a wide variability in the results of the studies, but it depends mainly on the cultivar chosen. Not every study deals with the same cultivars, but rather distinguishes only between old cultivars and modern mass-bred ones. Moreover, the fruit polyphenol content can be significantly influenced by the weather in a given year, geographical location, genetic variability, growth period and conditions, fruit storage conditions, and cultivation methods [35, 36, 40].

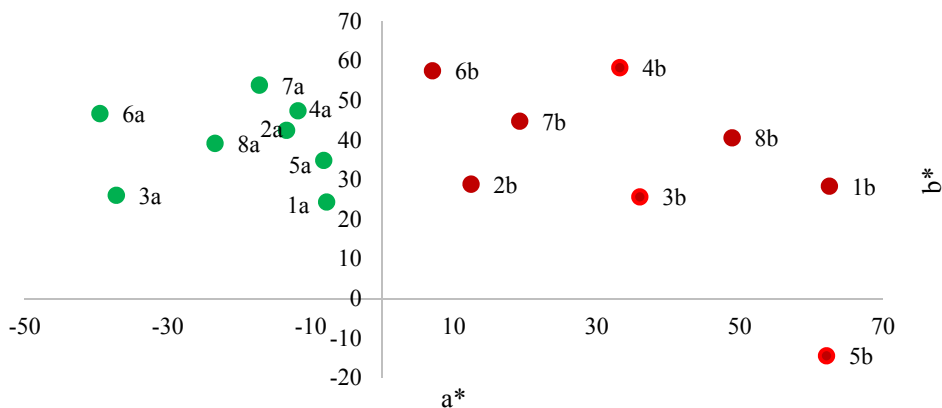


Fig. 3. The color of the skin and the colored part of the fruit of the old apple cultivars tested; a – skin color, b – pulp color

Ryc. 3. Barwa skórki i wybarwienie owocu badanych starych odmian jabłek; a – kolor skórki, b – kolor miąższu

Explanatory notes / objaśnienia:

1 – Weihnachtsapfel; 2 – Weisser Winterkalvill; 3 – Boikenapfel; 4 – Geflammter Kardinal; 5 – Roter Herbstkalvill; 6 – Lausitzer Nelkenapfel; 7 – Riesenboiken; 8 – Kaiser Alexander

Conclusions

1. The fruit of the Riesenboiken and Kaiser Alexander cultivars was rich in micro- and macronutrients. The fruit of all cultivars contained low amount of harmful heavy metals. The lowest sugar content among the tested cultivars is found in Roter Herbstkalvill, although it has the best sugar-to-acid ratio (3.25). For consumers, a low sugar-to-acid ratio makes the fruit tastier. A low sugar content is important for consumers, especially as fructose is predominant, which is not the healthiest sugar form.
2. The Weihnachtsapfel cultivar had the highest content of polyphenolic compounds. The following cultivars: Roter Herbstkalvill and Kaiser Alexander also need to be mentioned. For health-promoting reasons, these cultivars should be popularized. Their rich chemical composition could have a positive impact on human health.
3. The cultivars which are the best for use in the processing industry are Geflammter Kardinal and Boikenapfel due to their high dry matter content. The low-sugar cultivars Roter Herbstkalvill and Weisser Winterkalvill are suitable for drying and producing flour for baking.
4. If the fruit size and disease resistance allow an efficient yield, these cultivars can be successfully used instead of or in addition to the currently popular apple cultivars.

Funding: The research was carried out with the participation of the Wolin National Park and was financed from the forest fund funds provided by the National Forests.

References

- [1] Antal T., Sikolya L., Kerekes B.: Assessment of freezing pre-treatments for the freeze dried of apple slices. *Acta Univ. Cibiniensis, Ser. E: Food Technol.*, 2013, 17(2), 3-14.
- [2] Brzozowska A. (Ed.): *Składniki mineralne w żywieniu człowieka*. Wydaw. Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego., 2002.
- [3] Cappuccio F.: Sodium, potassium, calcium and magnesium and cardiovascular risk. *J. Cardiovasc. Risk.*, 2000, 7, 1-3.
- [4] Ceymann M., Arrigoni E., Schärer H., Nising AB., Hurrell RF.: Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. *J. Food Compos. Anal.*, 2012, 26(1), 128-135.
- [5] Chelpiński P., Ochmian I. Forczmański P.: Sweet cherry skin colour measurement as a non-destructive indicator of fruit maturity. *Acta Univ. Cibiniensis, Ser. E: Food Technol.*, 2019, 23(2), 157-166.
- [6] Ciesa F., Höller I., Guerra W., Berger J., Dalla Via J., Oberhuber M.: Chemodiversity in the fingerprint analysis of volatile organic compounds (VOCs) of 35 old and 7 modern apple cultivars determined by proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) in two different seasons. *Chem. Biodivers.*, 2015, 12(5), 800-812.

- [7] Dababneh M.F., Grinenko U.V., Almuaikeel N.S. Zhuravel I.O.: The study of micro-and macroelements composition of quince (*Cydonia oblonga*) plant material. Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci., 2017, 8(2), #1830.
- [8] Donno D., Beccaro G.L., Mellano M.G., Torello Marinoni D., Cerutti A.K., Canterino S. Bounous G.: Application of sensory, nutraceutical and genetic techniques to create a quality profile of ancient apple cultivars. J. Food Qual., 2012, 35, 169-181..
- [9] DzU. UE. L 364/5. (2012. 2006). Rozp. Kom. (WE) Nr 188/2006 ustalające dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych.
- [10] European Commission. (2006). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off. J. Eur. Union, 364, 365-324.
- [11] Ferretti G., Turco I. Bacchetti T.: Apple as a source of dietary phytonutrients: bioavailability and evidence of protective effects against human cardiovascular disease. Food Nutr. Sci., 2014, 5(13), 1234-1246.
- [12] Fisher M., Fisher C.: Genetic resources as basis for new resistant apple cultivars. J. Fruit Ornam. Plant Res., 2004, 12, 63-76.
- [13] Grigoras C.G., Destandau E., Fougère L. Elfakir C.: Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. Ind. Crops Prod., 2013, 49, 794-804.
- [14] Grudzińska M. Zgórska K.: Wpływ obróbki wstępnej oraz metod gotowania na zawartość azotanów w warzywach. Rocznik Ochrona Środowiska, 2005, 7, 233-41.
- [15] Grzebuła S. Witkowski P.: The determination of selenium trace levels in biological materials with fluorometric method. Selenium determination in tissues and bodily fluids. Pol. Arch. Wet., 1997, 20, 125-138.
- [16] Jarosz M., Stolińska H. Wolańska D.: Żywnienie w niedoczynności tarczycy: porady lekarzy i dietetyków, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2015.
- [17] Jorde R. Bonna K.: Calcium from dairy products, vitamin D intake, and bloodpressure: the Tromsø Study. Am. J. Clin. Nutr., 2000, 71, 1530-1534.
- [18] Kellerhals M., Szalatnay D., Hunziker K., Duffy B., Nybom H., Ahmadi-Afzadi M., Höfer M., Richter K. Lateur M.: European pome fruit genetic resources evaluated for disease resistance. Trees, 2012, 26, 179-189.
- [19] Mijowska K., Ochmian I. Oszmiański J.: Impact of cluster zone leaf removal on grapes cv. regent polyphenol content by the UPLC-PDA/MS method. Molecules, 2016, 21(12), #1688.
- [20] Mitre I., Mitre V., Ardelean M., Sestras, R. E., Sestras, A.F.: Evaluation of old apple cultivars grown in central Transylvania, Romania. Not. Bot. Horti. Agrobot. Cluj Napoca, 2009, 37(1), 235-237.
- [21] Mohanty S., Ray P., Swain M.R. Ray R.C.: Fermentation of cashew (*Anacardium occidentale* L.) "apple" intowine. J. Food Process. Preserv., 2006, 30(3), 314-322.
- [22] Muszyńska B., Malec M., Sułkowska-Ziaja K.: Właściwości lecznicze i kosmetyczne drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*). Postępy Fitoterapii, 2013, 1, 54-62.
- [23] Nicolae S., Paul-Bădescu A., Nicola C. Pârvan C.: Chemical and biochemical components in fruit and their role in the human health. Fruit Grow. Res., 2008, 24, 138-143.
- [24] Oszmiański J. Lachowicz S.: Effect of the Production of Dried Fruits and Juice from Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the Content and Antioxidative Activity of Bioactive Compounds. Molecules, 2016, 21(8), #1098.
- [25] Oszmiański J., Lachowicz S., Gładel E., Cebulak T. Ochmian I.: Determination of phytochemical composition and antioxidant capacity of 22 old apple cultivars grown in Poland. Eur. Food Res. Technol., 2018, 244, 647-662.

- [26] Page K.A., Chan O., Arora J., Belfort-DeAguiar R., Dzuira J., Roehmholdt B. Sherwin R.S.: Effects of fructose vs glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways. *Jama*, 2013 309(1), 63-70.
- [27] Pezzarossa B, Remorini D, Gentile M.L. Massai R.: Effects of foliar and fruit addition of sodium selenate on selenium accumulation and fruit quality. *J. Sci. Food Agric.*, 2012, 92, 781-786.
- [28] Pijanowski E., Mrożewski S., Horubała A. Jarczyk A.: *Technologia produktów owocowych i warzywnych*, tom I. PWRiL, Warszawa, 1973.
- [29] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne - Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych - Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [30] Podśedek A., Wilska-Jeszka J., Anders B. Markowski J.: Compositional characterisation of some apple varieties. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000, 210(4), 268-272.
- [31] Poznański, G.: Tradycyjne sadownictwo na terenie Pogórza Przemyskiego. *Rocznik Przemyski, Nauki Przyrodnicze*, 2016, 3, 111-124.
- [32] Raudone L., Raudonis R., Liaudanskas M., Janulis V. Viskelis P.: Phenolic antioxidant profiles in the whole fruit, flesh and peel of apple cultivars grown in Lithuania. *SciHort.*, 2017, 216, 186-192.
- [33] Sellmann C., Priebs J., Landmann M., Degen C., Engstler A.J., Jin C.J., ... Bergheim I.: Diets rich in fructose, fat or fructose and fat alter intestinal barrier function and lead to the development of nonalcoholic fatty liver disease over time. *J. Nutr. Biochem.*, 2015, 26(11), 1183-1192.
- [34] Sikora F., Lachowicz S., Kapusta I., Dylawski M., Zyska W. Ochmian I.: Changes in the quality of old apple cultivars after freeze-drying. *Acta Univ. Cibiniensis, Ser. E: Food Technol.*, 2020, 24(2), 175-185.
- [35] Valavanidis A., Vlachogianni T., Psomas A., Zovoili A. Siatis V.: Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. *J. Food Sci. Technol.*, 2009, 44(6), 1167-1175.
- [36] Vieira F.G.K., Borges G.D.S.C., Copetti C., Di Pietro P.F., da Costa Nunes E., Fett R.: Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *SciHort.*, 2011, 128(3), 261-266.
- [37] Waszkiewicz-Robak B.: Pektyny i ich zastosowanie w przemyśle spożywczym. *Agro Przemysł*, 2005, 4, 25-27.
- [38] Watkinson J.H.: Fluorometric determination of selenium in biological material with 2,3-Diaminonaphthalene. *Anal. Chem.*, 1966, 38, 92-97.
- [39] Wojciechowska R.: *Akumulacja azotanów a jakość produktów ogrodnich*. Wyd. Coperite, Kraków, 2005, 21-27.
- [40] Wojdyło A., Oszmiański J. Laskowski P.: Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56, 6520-6530.


OSIEM STARYCH ODMIAN JABŁONI - OCENA MOŻLIWOŚCI ICH WYKORZYSTANIA PRZEZ PRZEMYSŁ PRZETWÓRCZY

Streszczenie

Wprowadzenie. Inne kryteria oceny owoców stosowane są przez konsumentów i przemysł przetwórczy. Dla konsumentów ważny jest smak, a niski stosunek cukru do kwasu sprawia, że owoce są znacznie smaczniejsze. Niniejsze badania mają na celu określenie zawartości mikro- i makroelementów, cukrów, kwasowości, pektyn i związków fenolowych w owocach 8 starych odmian jabłoni. Owoce zbierano na

terenie Wolińskiego Parku Narodowego. Określono jakość 8 odmian jabłoni - ich barwę i skład chemiczny.

Wyniki i wnioski. Owoce odmian Riesenboiken i Kaiser Alexander były bogate w mikro- i makroelementy. Owoce wszystkich odmian zawierały niewielkie ilości szkodliwych metali ciężkich. Najniższą zawartością cukrów spośród testowanych odmian charakteryzuje się odmiana Roter Herbstkalvill, choć ma najlepszy stosunek cukrów do kwasów (3,25). Dla konsumentów niski stosunek cukrów do kwasów sprawia, że owoce są smaczniejsze. Niska zawartość cukru jest ważna dla konsumentów, zwłaszcza że dominuje fruktoza, która nie jest najzdrowszą formą cukru. Odmiana Weihnachtsapfel miała najwyższą zawartość związków polifenolowych. Na wyróżnienie zasługują również odmiany Roter Herbstkalvill i Kaiser Alexander. Ze względów prozdrowotnych odmiany te powinny być popularyzowane. Ich bogaty skład chemiczny może mieć pozytywny wpływ na zdrowie człowieka. Do wykorzystania w przemyśle przetwórczym najlepsze będą odmiany Geflammtter Kardinal i Boikenapfel, ze względu na wysoką zawartość suchej masy. Odmiany o niskiej zawartości cukru Roter Herbstkalvill i Weisser Winterkalvill nadają się do suszenia i produkcji mąki do wypieków. Jeśli wielkość owoców i odporność na choroby pozwalają na wydajne plony, odmiany te mogą być z powodzeniem stosowane zamiast lub jako dodatek do obecnie popularnych odmian jabłoni.

Słowa kluczowe: cukry, kolor, związki polifenolowe, zawartość minerałów, kwasy organiczne 

AGNIESZKA STAREK-WÓJCICKA, ELŻBIETA GRZĄDKA,
AGNIESZKA SAGAN, PIOTR TEREKUN, MICHAŁ KWIATKOWSKI,
DAWID ZARZECZNY, ZBIGNIEW KOBUS, BARBARA CHUDZIK,
DARIUSZ ANDREJKO, JOANNA PAWŁAT

WPLYW OBRÓBKII ZIMNĄ PLAZMĄ ATMOSFERYCZNĄ NA JAKOŚĆ ŚWIEŻEGO SOKU TŁOCZONEGO Z MARCHWI

Streszczenie

Wprowadzenie. Rosnące zainteresowanie konsumentów nabywaniem żywności minimalnie przetworzonej, zachowującej różne składniki bioaktywne, zrodziło potrzebę zbadania wpływu nowej niskotemperaturowej metody utrwalania na cechy jakościowe świeżo tłoczonego soku z marchwi (odmiana Nerac). Analizowano wpływ gazu plazmowego (powietrza) generowanego w reaktorze typu Glide-arc pracującym pod ciśnieniem atmosferycznym na zmiany mikrobiologiczne, fizykochemiczne i strukturalne próbek produktów. Do badań wykorzystano trzy grupy soków charakteryzujących się różnym czasem ekspozycji na plazmę (10, 20, 30 minut) oraz sok niepoddany obróbce (kontrolny). Właściwości soków oceniano po 1, 2 i 3 dniach przechowywania w lodówce w temperaturze 6 °C.

Wyniki i wnioski. Badania wykazały, że soki poddane działaniu plazmy przez 20 i 30 minut charakteryzowały się dobrą, stabilną jakością mikrobiologiczną nawet po 3 dniach chłodniczego przechowywania. W wyrobach zaobserwowano również wzrost stabilności koloidalnej i, co bardzo ważne, zawartości ekstraktu, karotenoidów i polifenoli w porównaniu z próbką kontrolną. Analiza EDX wykazała, że składy pierwiastkowe próbek przed plazmowaniem i po nim nie różniły się od siebie w sposób jakościowy, natomiast występowały niewielkie różnice ilościowe. Jednakże we wszystkich próbkach soku traktowanego zimną plazmą zaobserwowano nieznaczne zmniejszenie jasności wyrobów oraz wskaźników chromatycz-

Dr hab. prof. UP A. Starek-Wójcicka ORCID: 0000-0002-9387-5900, dr A. Sagan ORCID: 0000-0001-6542-9260, prof. dr hab. D. Andrejko ORCID: 0000-0001-9345-7795, Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin; dr hab. prof. UMCS E. Grządka ORCID : Katedra Chemii Fizycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, pl. M. Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin; dr inż. P. Terebun ORCID: 0000-0002-3947-9552, mgr inż. M. Kwiatkowski ORCID: 0000-0001-5697-3176, dr inż. D. Zarzeczny ORCID: 0000-0003-2029-9962, dr hab. inż., prof. PL J. Pawlat ORCID: 0000-0001-8224-0355, Zakład Technologii Plazmowych, Katedra Elektrotechniki i Elektro technologii, Wydział Elektrotechniki i Informatyki, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 38C, 20-618 Lublin, Dr hab. prof. UP Z. Kobus ORCID: 0000-0003-2155-1090, Katedra Podstaw Techniki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin, dr B. Chudzik ORCID: 0000-0001-5091-8846, Pracownia Edukacji Biologicznej i Środowiskowej z Muzeum Zoologicznym, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; Kontakt: e-mail: agnieszka.sagan@up.lublin.pl

ności a* i b*. Generalnie wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że obróbka zimną plazmą jest obiecującą techniką, która może zapewnić lepszą jakość i większą stabilność koloidalną podczas przetwarzania soku marchwiowego, a traktowany w ten sposób produkt charakteryzuje się lepszymi właściwościami fizykochemicznymi i większą ilością biodostępnych składników odżywczych.

Słowa kluczowe: świeżo tłoczony sok marchwiowy, zimna plazma, stabilność mikrobiologiczna, wartości odżywcze, stabilność koloidalna, potencjał dzeta

Wprowadzenie

Wraz z nadejściem XXI wieku rośnie zapotrzebowanie na bezpieczną i odżywczą żywność [18]. Przemysł spożywczy coraz częściej stara się wprowadzać nowatorskie technologie nietermicznego przetwarzania wyrobów. Zimna plazma to jedna z obiecujących niskotemperaturowych metod utrwalania żywności, która może znaleźć zastosowanie w branży sokowniczej [5, 16, 21]. Jej ogromną zaletą jest to, że krótki czas aplikacji nie powoduje znaczącego pogorszenia jakości produktów. W związku z tym jest to doskonała alternatywna technologia przetwarzania (w stosunku do pasteryzacji), która poprzez inicjowanie reakcji fizykochemicznych z udziałem reaktywnych form tlenu i azotu oraz naładowanych cząstek może być wykorzystywana między innymi do poprawiania wartości odżywczych czy przedłużenia przydatności do spożycia surowych i przetworzonych wyrobów. Ze względu na różnorodność biologiczną poszczególnych produktów żywnościowych, odmienne właściwości reaktorów plazmowych oraz możliwość zastosowania obróbki na różnych etapach produkcji, wiele potencjalnych wariantów zastosowania niskotemperaturowej plazmy pozostaje niezbadanych [2, 4, 6, 10, 13, 19, 22, 24, 25, 26]. Jednym z produktów, na temat którego wciąż brakuje publikacji naukowych dotyczących wykorzystania obróbki plazmowej, jest sok marchwiowy. Z uwagi na to, że zawiera on wiele substancji biologicznie czynnych, a także łatwo ulega rozwarstwieniu i zmianom barwy konieczne jest określenie zakresu, w jakim zimna plazma wpływa na właściwości fizykochemiczne, strukturę i stabilność mikrobiologiczną tego typu wyrobu.

Celem pracy było wykorzystanie zimnej plazmy do uzyskania soku z marchwi o wysokiej stabilności mikrobiologicznej i koloidalnej cechującego się wydłużonym terminem przydatności do spożycia i zachowanymi cennymi właściwościami odżywczymi.

Material i metody badań

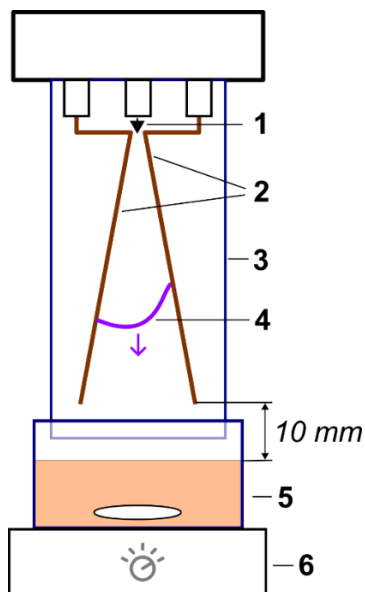
Material badany

Material badany stanowił sok uzyskany z marchwi odmiany Nerac, uzyskany przy użyciu wyciskarki wolnoobrotowej firmy Hurom (Model HZ, Owadów, Sławno). Część napoju poddano działaniu zimnej plazmy przez 10, 20 lub 30 minut, zaś kontrolę

stanowił sok niepoddany obróbce. Próbkę przechowywano w lodówce w temperaturze 6 °C przez 3 dni.

Sposób obróbki soku zimną plazmą

Do obróbki plazmą nierównowagową wykorzystano jednofazowy reaktor ze ślizgającym się łukiem (*gliding arc discharge*), pracujący pod ciśnieniem atmosferycznym. Składał się on z układu dwóch wyprofilowanych, miedzianych elektrod o długości 78 mm, przy kącie rozwarcia wynoszącym 12°. W celu ograniczenia wypływu gazu na zewnątrz układu elektrody umieszczono w szklanej osłonie o średnicy 60 mm. Układ zasilania pozwalał na uzyskiwanie wysokonapięciowych impulsów o wartości maksymalnej 3,5 kV przy mocy pozornej układu wynoszącej 60 VA. Szklany pojemnik o średnicy wewnętrznej 63 mm napełniano 25 ml świeżo tłoczonego soku marchwiowego i umieszczono w taki sposób, aby zwierciadło cieczy było w odległości 10 mm od powierzchni elektrod. Jako gaz roboczy wykorzystano sprężone powietrze przy przepływnie 440 l/h, regulowanym za pomocą szklanego rotametu tablicowego (Zakłady Automatyki „ROTAMETR”, Polska). W wyniku wymuszonego przepływu



Rys. 1. Schemat układu do obróbki plazmą nierównowagową: 1 – wymuszony przepływ gazu; 2 – elektrody; 3 – szklana rura; 4 – ślizgający się łuk elektryczny; 5 – otwarte naczynie z sokiem i mieszadłem; 6 – mieszadło magnetyczne

Fig. 1. Schematic diagram of the non-equilibrium plasma processing system: 1 – forced gas flow; 2 – electrodes; 3 – glass tube; 4 – gliding arc; 5 – open container with juice and stirrer bar; 6 – magnetic stirrer

gazu wytworzony łuk elektryczny poruszał się wzdłuż elektrod w kierunku cieczy, po czym następowało jego gaśnięcie i ponowne pojawienie się w strefie zapłonu. Dla uzyskania równomiernej ekspozycji na czynniki aktywne sok podczas obróbki był mieszany z użyciem mieszadła magnetycznego oraz mieszadełek pokrytych teflonem (rys. 1). Do kontroli temperatury cieczy po obróbce wykorzystano miernik temperatury DT-847U (Yu Ching Technology) z termoparą typu K. Maksymalna zaobserwowana temperatura dla najdłuższego czasu obróbki nie przekraczała 39 °C.

Ocena mikrobiologiczna soku z marchwi

Oceny jakości mikrobiologicznej soków marchwiowych świeżo wyciśniętych (kontrolnych) oraz poddanych procesowi plazmowania dokonano na podstawie wyników z posiewów powierzchniowych, wykonanych tradycyjną metodą płytkową na pożywcze zestalanej agarom, zgodnie z obowiązującymi normami [PN-EN ISO 4833-2, PN-ISO 21527-2]. Posiewy przeprowadzono w komorze laminarnej z lampą UV CRUMA 670FL (El Prat de Llobregat, Barcelona, Hiszpania). Hodowlę bakterii tlenowych prowadzono na podłożu agar odżywczy (PCA) w temperaturze 30 °C przez 72 h, a drożdży i pleśni – na podłożu agarowym YPD z dichloranem i 18-procentowym dodatkiem glicerolu (DG18), w temperaturze 25 °C przez 5 dni. Inkubacja analizowanych mikroorganizmów odbywała się w cieplarni POL-EKO typ CLN 115 SMART (Wodzisław Śląski, Polska). Wyrosłe kolonie zostały zliczone, a wyniki wyrażono, jako \log_{10} jednostek tworzących kolonie na mililitr próbki soku (\log_{10} jtk/cm³).

Pomiar podstawowych właściwości fizykochemicznych soku z marchwi

Pomiar pH soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej przeprowadzono pH-metrem (Elmetrin CX-401, Polska) poprzez bezpośrednie zanurzenie elektrody (elektroda EPS-1) w soku. Przewodność soków przed obróbką plazmową i po niej mierzono za pomocą konduktometru (Elmetrin CX-401, Polska), wykorzystując elektrodę konduktometryczną (elektrody EC-60), zaś stężenie rozpuszczonego tlenu – przy wykorzystaniu tlenomierza (Edge HI2004-02, Hanna Instruments, Polska) poprzez bezpośrednie zanurzenie elektrody (HI 764080) w soku. Barwę próbek soków określano za pomocą spektrofotometru SF80 (3Color, Marcq-en-Barœul, Francja). Instrument każdorazowo standaryzowano za pomocą czarnej i białej płytki (L^* : 92,37, a^* : -0,82, b^* : 1,82) przy użyciu oświetlacza D65 i kąta obserwatora 10°. Parametry barwy wyrażono jako: L^* , gdzie niska liczba 0 ÷ 50 oznacza ciemną barwę, a wysoka wartość 51 ÷ 100 wskazuje na jasną barwę; a^* , gdzie liczba dodatnia świadczy o przesunięciu barwy w kierunku koloru czerwonego, a wartość ujemna – o przesunięciu barwy w kierunku koloru zielonego, a także wartość b^* informującą, czy kolor badanego produktu jest bardziej żółty, czy niebieski. Wszystkie pomiary podstawowych

właściwości fizykochemicznych soku powtórzone trzykrotnie i podano wartości średnie z odchyleniem standardowym.

Analiza potencjału dzeta

Potencjał dzeta soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej mierzono za pomocą NanoZS Zetasizer (Malvern Instruments, UK). Przed każdym pomiarem komorę aparatu przepłukiwano badanym sokiem. Do pomiarów wykorzystano uniwersalną celę zanurzeniową zawierającą zespół złożony z elektrod palladowych w rozstawie 2 mm. Pomiar przeprowadzono w kuwetach PCS1115. Oprogramowanie przeliczyło ruchliwość elektroforetyczną próbki na potencjał dzeta za pomocą równania Smoluchowskiego. Pomiar przeprowadzono w temperaturze 25 °C. Każdy pomiar powtarzano sześciokrotnie, a wartości uśredniano, podając odchylenia standardowe.

Pomiary stabilności koloidalnej

Stabilność koloidalną soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej wykonano metodą turbidymetryczną Turbiscan LabExpert (L'Union, Francja) z modulem chłodzącym TLab Cooler. Sok przed obróbką plazmową i po niej (30 minut) przelewano do naczynia pomiarowego, które umieszczano w aparacie w termostowanej komorze. Dioda elektroluminescencyjna emitowała skolimowaną wiązkę światła ($\lambda = 880$ nm) przechodzącą przez próbkę. Detektor transmisji rejestrował światło przechodzące przez próbkę pod kątem 0° w kierunku padającego światła. Kolejna dioda pełniła funkcję detektora rozproszenia wstecznego rejestrując światło rozproszone pod kątem 135° . Próbkę skanowano przez 72 godziny z interwałem czasowym wynoszącym 2h. Wartości wskaźnika stabilności Turbiscan (TSI) w funkcji czasu obliczono również na podstawie wyników eksperymentów przy użyciu Turbiscan Easy Soft z równania:

$$TSI = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{BS})^2}{n - 1}}$$

gdzie: x_i to średnie rozproszenie wsteczne co 2 godziny pomiaru, x_{BS} to średnia x_i , a n to liczba skanów. Pomiar prowadzono w temperaturze 25°C. Każdy pomiar powtarzano trzykrotnie, a wartości uśredniano podając odchylenia standardowe.

Analiza SEM - EDX

Do analizy morfologii próbek suszu uzyskanego z soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej oraz ich składu pierwiastkowego (EDX) wykorzystano skaningową mikroskopię elektronową (SEM, Quanta 3D FEG, Fei, Hillsboro, OR, USA). Sok marchwiowy (25 ml) przelano na szalkę Petriego o średnicy 14 cm i suszono w suszarce laboratoryjnej (SLW 115 Simple, Pol-Eko, Polska) w temperaturze 40 °C przez 12 h. Niska temperatura i długi czas procesu pozwoliły zminimalizować

wpływ suszenia na właściwości produktu. Susz zebrano z szalki i wykorzystano do dalszych badań. Napięcie stosowane podczas pomiarów SEM wynosiło 5 KV, a mikrofotografie wykonano przy powiększeniu $\times 100$, WD = 10 mm. Wyniki ilościowe (EDX) uśredniono z czterech powtórzeń, podając odchylenia standardowe.

Ocena wartości odżywczej

Całkowita zawartość substancji rozpuszczalnych, czyli ekstraktu wyrażonego w °Brix, została oznaczona poprzez pomiar współczynnika załamania światła za pomocą ręcznego refraktometru cyfrowego LLG-uniREFRACTO (Meckenheim, Niemcy). Oznaczenie zawartości karotenoidów przeprowadzono spektrofotometrycznie [7]. Próbkę soku ekstrahowano mieszaniną etanolu, acetonu i heksanu (w stosunku 1:1:2). Absorbancję fazy heksanowej mierzono przy długości fali 450 nm przy użyciu spektrofotometru Thermo Scientific UV-VIS Helios Omega 3 (Massachusetts, USA). Zawartość polifenoli oznaczono metodą Folina-Ciocalteu'a [11]. Próbkę soku rozcieńczano 80-procentowym metanolem w stosunku 1:1 i wytrząsano przez pół godziny. 100 μ l tej mieszaniny połączono z 2,0 cm^3 wody i 200 μ l odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Następnie dodano 1 cm^3 węgla sodu (20%). Absorbancję otrzymanego roztworu mierzono po 60 minutach przy fali 765 nm wykorzystując spektrofotometr UV-VIS (Helios Omega, Massachusetts, USA). Krzywą kalibracyjną wykonano przy użyciu standardowych roztworów kwasu galusowego, stosując tę samą metodę. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna wyników obejmowała obliczenie wartości średniej i odchylenia standardowego (Microsoft Excel 2019) oraz analizę ANOVA (Statistica 10). Do określenia różnic pomiędzy wartościami średnimi wykorzystano test post-hoc, Tukeya ($p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Wpływ obróbki zimną plazmą na jakość mikrobiologiczną soku marchwiowego przedstawiono na rysunku 2. Badania wykazały, że ogólna liczba drobnoustrojów w soku kontrolnym (nie poddanym plazmowaniu) po pierwszej dobie przechowywania w zamkniętych pojemnikach w temp. +4°C wynosiła 5,15 \log_{10} jtk/ cm^3 i rosła wraz z czasem jego przechowywania, osiągając po trzech dobach wartość 8,28 \log_{10} jtk/ cm^3 , co czyniło sok nieprzydatnym do spożycia. Przy tak dużej liczbie mikroorganizmów początkowo sok nie wykazywał żadnych oznak zepsucia, jednak od trzeciego dnia zaobserwowano zmianę jego cech organoleptycznych (stwierdzono nieprzyjemny zapach oraz śluzowatą konsystencję). Zgodnie z wymaganiami zawartymi w Codex Standards z 2005 roku, według których całkowita liczba tlenowych mikroorganizmów

mezofilnych w soku przeznaczonym do spożycia na surowo nie powinna przekraczać $3-4 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, analizowane próbki soku nie nadawały się do spożycia. Zastosowana obróbka zimną plazmą wykazała dużą skuteczność w eliminacji drobnoustrojów, zależną od czasu trwania tego zabiegu.

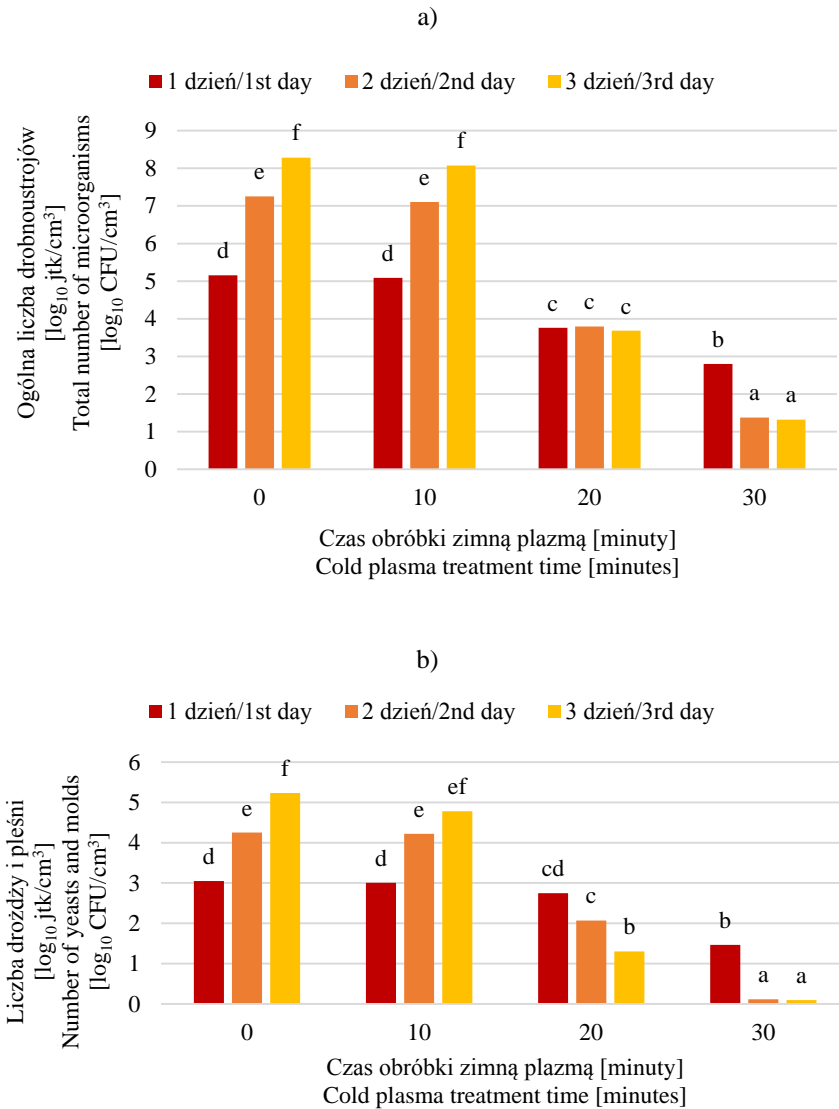
Czas plazmowania wynoszący 10 minut nie wpłynął istotnie na ilość drobnoustrojów w stosunku do próby kontrolnej, bez względu na czas przechowywania soku. Z kolei traktowanie próbek plazmą przez 20 i 30 minut pozwoliło zredukować ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych i otrzymać produkt zdatny do spożycia, spełniający wymagane kryteria.

Największą eliminację liczby mezofilnych mikroorganizmów tlenowych, o 85 % w stosunku do kontroli, zaobserwowano w przypadku próbek plazmowanych przez 30 minut po 3 dniach przechowywania (Rys. 2a).

Ilość drożdży i pleśni (Rys. 2b) w kolejnych dniach przechowywania kontrolnego soku marchwiowego również wzrastała, osiągając po pierwszej dobie przechowywania ilość $3,05 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, a po trzech dobach – $5,23 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$. Po zastosowaniu obróbki zimną plazmą przez 10 minut stwierdzono, że liczba drożdży i pleśni zmniejszyła się w stosunku do prób kontrolnych tylko o 1,31 %, 0,71 % i 8,60 % odpowiednio po 1, 2 oraz 3 dniach przechowywania próbek w warunkach chłodniczych. Wydłużenie czasu plazmowania do 20 minut było bardzo skuteczne w eliminacji badanych grzybów. Zaskakujące było to, że zawartość drożdży i pleśni w kolejnych dniach przechowywania malała. Po pierwszej dobie przechowywania liczba jednostek tworzących kolonie wynosiła $2,75 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, a po 3 dobach przechowywania spada do $1,30 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$. Wyniki te wskazują, że 20-minutowa obróbka plazmą całkowicie zahamowała zdolność namnażania się grzybów oraz spowodowała uszkodzenia ich komórek, które w kolejnych dniach prowadziły do ich stopniowego obumierania. Natomiast 30-minutowe traktowanie soku zimną plazmą pozwoliło wyeliminować analizowane drobnoustroje prawie całkowicie.

Efekt dekontaminacyjny zimnej plazmy w stosunku do różnych szczepów mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych, potwierdzony podczas obróbki soku jabłkowego, pomarańczowego, wiśniowego czy pomidorowego [3], ananasowego [20] a także jagodowego [9] wynika z chemicznych oddziaływań rodników (O, OH, itp.), wzbudzonych, reaktywnych cząsteczek (O_2^* , O_3 , NO, itp.) lub cząstek naładowanych (elektrony i jony atomowe lub cząsteczkowe) na lipidy i białka błon komórkowych. Substancje reaktywne, powstające w wyniku rozkładu powietrza, takie jak ozon, tlen atomowy, nadtlenki, rodniki hydroksylowe odgrywają wiodącą rolę w dezaktywacji drobnoustrojów, podczas gdy NO i dwutlenek azotu NO_2 uczestniczą w inaktywacji mikroorganizmów poprzez rozkład związków chemicznych, takich jak białka, lipidy i kwasy nukleinowe. Ważna jest również rola fotonów UV w inaktywacji mikroorgani-

zmów, które uszkadzają materiał genetyczny, a tym samym hamują replikację DNA [8,12,14,15,17].



Rys. 2. Wpływ czasu działania zimnej plazmy na zawartość a) ogólnej liczby drobnoustrojów ($n = 4$) i b) drożdży i pleśni ($n = 4$) w soku marchwiowym przechowywanym chłodniczo

Fig. 2. The effect of cold plasma exposure time on the content of a) total number of microorganisms ($n = 4$) and b) yeasts and molds ($n = 4$) in carrot juice stored refrigerated

W tabeli 1 zestawiono wyniki analizy barwy soków przedstawionej w przestrzeni barw CIE L*a*b*. Odnotowano pociemnienie (zmniejszenie wartości parametru L*) wyrobów poddanych obróbce zimną plazmą w porównaniu z sokiem kontrolnym. Współczynnik chromatyczności a* zmieniał się wraz ze zmianą czasu obróbki plazmą. Im dłuższy był czas traktowania soku marchwiowego zimną plazmą, tym ten współczynnik osiągał niższe wartości. Czas przechowywania był także czynnikiem różnicującym ten parametr. Zastosowana obróbka, a także czas przechowywania, wpłynęły również na obniżenie wartości współczynnika charakteryzującego barwę żółtą b*.

Tabela 1. Wpływ zimnej plazmy na parametry barwy soku marchwiowego (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 1. Effect of cold plasma treatment on color attributes of carrot juice (n = 3, mean ± standard deviation)

Czas plazmowania (minuty) / Plasma treatment time (minutes)	Czas przechowywania / Time storage (Days)	Indeksy barwy / Coloring Index		
		L*	a*	b*
0 (kontrola/control)	1	42,15 ^f ±0,02	16,75 ^g ±0,06	23,82 ^f ±0,04
10		41,51 ^h ±0,06	15,63 ^f ±0,02	23,41 ^f ±0,02
20		40,34 ^f ±0,07	15,32 ^e ±0,06	20,52 ^e ±0,02
30		39,86 ^e ±0,04	13,55 ^a ±0,04	20,52 ^e ±0,02
0 (kontrola/control)	2	41,16 ^g ±0,06	15,62 ^f ±0,18	21,17 ^{de} ±0,02
10		41,15 ^g ±0,02	14,38 ^{bc} ±0,03	20,52 ^c ±0,02
20		41,16 ^e ±0,06	15,62 ^b ±0,18	21,17 ^{de} ±0,02
30		38,90 ^b ±0,01	14,15 ^b ±0,03	18,08 ^b ±0,03
0 (kontrola/control)	3	39,60 ^d ±0,05	14,92 ^d ±0,06	20,65 ^{cd} ±0,12
10		39,18 ^c ±0,03	14,62 ^c ±0,18	20,52 ^a ±0,02
20		39,18 ^c ±0,05	14,29 ^b ±0,08	17,52 ^a ±0,44
30		38,11 ^a ±0,02	14,38 ^{bc} ±0,03	17,22 ^a ±0,08

Objaśnienia / Explanatory notes:

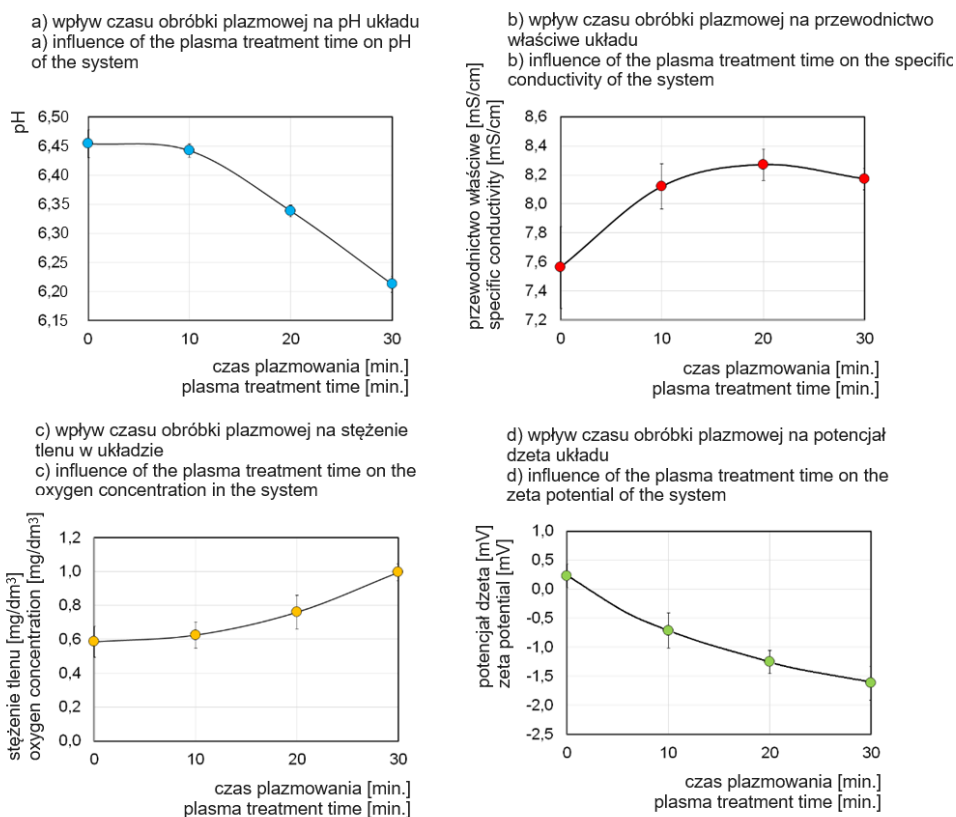
a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$

Rysunek 3 przedstawia wpływ czasu plazmowania na podstawowe parametry fizykochemiczne soku marchwiowego (pH, przewodnictwo właściwe, stężenie tlenu) oraz potencjał dzeta. Jak widać, pH badanych układów malało stopniowo wraz ze wzrostem czasu plazmowania próbki (Rys. 3a). Oznacza to, że w trakcie plazmowania w układzie pojawiało się więcej substancji o charakterze kwasowym. Substancje te mogą pochodzić bezpośrednio ze zjonizowanego gazu lub, co bardziej prawdopodobne, są produktami oddziaływań pomiędzy plazmą a składnikami badanego układu. Przewodnictwo właściwe soku marchwiowego poddanego obróbce plazmowej (Rys.

3b) wzrastało wraz z czasem obróbki plazmowej, co oznacza, że w roztworze pojawiało się coraz więcej substancji jonowych. Co ciekawe, w czasie plazmowania wzrastała także zawartość tlenu w układzie (Rys. 3c). Wiadomo, że plazma powoduje utlenianie układów [1], zatem im dłuższa obróbka plazmą, tym wyższe jest stężenie tlenu w układzie. Może to oznaczać, że w trakcie procesów plazmowania zmienia się nie tylko morfologia części stałych soków warzywnych, ale także skład fazy płynnej.

Potencjał dzeta jest to potencjał występujący w części dyfuzyjnej podwójnej warstwy elektrycznej na powierzchni cząstek zdyspergowanych. Wiadomo, że jeśli wartość potencjału dzeta jest większa od 30 mV lub mniejsza od -30 mV, układ jest bardzo stabilny [23]. Wówczas siły odpychania między cząstkami budującymi układ są większe od sił przyciągania. Natomiast jeśli wartości potencjału dzeta są bliskie zera, układ jest całkowicie niestabilny, za co odpowiedzialne są siły przyciągania międzycząsteczkowego (elektrostatyczne lub Van der Waalsa).

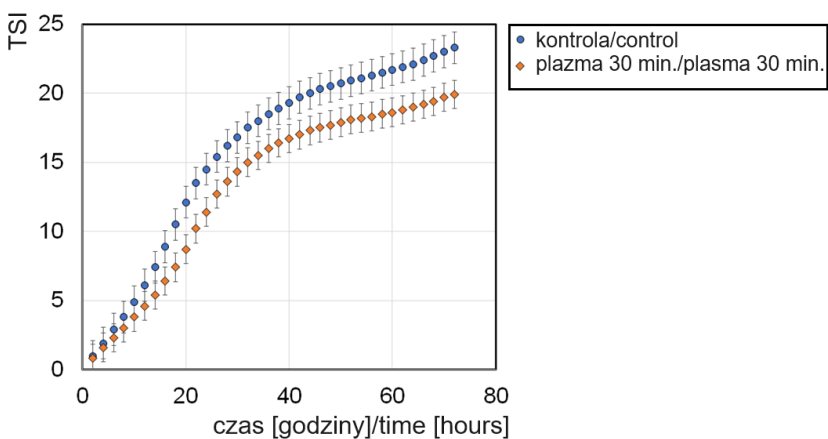


Rys. 3. Wpływ czasu plazmowania na parametry fizykochemiczne ($n=3$) i potencjał dzeta soku marchwiowego ($n=6$)

Fig. 3. Influence of plasma treatment time on physicochemical parameters ($n = 3$) and zeta potential ($n = 6$) of carrot juice

Rysunek 3d przedstawia wpływ czasu plazmowania na potencjał dzeta soku marchwiowego. Wyraźnie widać, że potencjał dzeta malał wraz z upływem czasu. Mniejsze wartości potencjału dzeta świadczą o tym, że im dłuższa obróbka plazmą, tym soki są stabilniejsze. Niemniej jednak uzyskanie bardziej szczegółowych informacji na temat zmian stabilności koloidalnej w czasie wymaga dodatkowych badań.

Obecnie najlepszą metodą badania stabilności koloidalnej układów zdyspergowanych jest turbidymetria. Rysunek 4 przedstawia wpływ obróbki plazmowej na stabilność koloidalną soku marchwiowego wyrażoną poprzez zmiany indeksu stabilności (TSI) od czasu. TSI może przyjmować wartości od 0 do 100. Im większa wartość TSI, tym badana próbka jest mniej stabilna. Zapewnienie stabilności koloidalnej dość gęstym sokom warzywnym stanowi duże wyzwanie, ponieważ układy te, zawierające duży udział frakcji stałej, łatwo sedymentują pod wpływem siły grawitacji. Najczęściej stosowanym sposobem generowania układów o większej stabilności jest dodatek niekoniecznie prozdrowotnych stabilizatorów. Jednak wzrost stabilności może być także wywoływany poprzez indukowanie na cząstkach stałych budujących układ dodatkowych ładunków jednoimiennych, które odpychając się zapewniają większą stabilność. Jak wynika z przedstawionych danych, obróbka plazmowa soku poprawiła jego stabilność koloidalną (mniejsze wartości TSI), co jest zgodne z wynikami analizy zmian potencjału dzeta badanych układów (Rys. 3d). Przyczyną poprawy stabilności koloidalnej soków poprzez plazmowanie są najprawdopodobniej zmiany składu i morfologii składników soku poddanych takiej obróbce. Substancje pochodzące ze zjonizowanego gazu mogą reagować zarówno z fazą ciekłą jak i stałą soku, a zmiany pojawiające się w układzie w efekcie tych oddziaływań najprawdopodobniej powodują powstanie dodatkowych ładunków jednoimiennych, które odpychając się, stabilizują układ.



Rys. 4. Wpływ obróbki plazmowej na stabilność soku marchwiowego (n = 3)

Fig. 4. Influence of plasma treatment on the stability of carrot juice (n = 3)

Tabela 2 przedstawia analizę ilościową SEM-EDX składu powierzchniowego wysuszonego soku marchwiowego przed trzydziestominutową obróbką zimną plazmą i po niej. Pierwszą i najważniejszą obserwacją jest to, że składy pierwiastkowe próbek przed plazmowaniem i po nim nie różniły się od siebie w sposób jakościowy, natomiast występowały niewielkie różnice ilościowe. Oznacza to, że zimna plazma zmienia jedynie morfologię powierzchni, ale nie jej skład.

Tabela 2. Skład pierwiastkowy [% masowy] powierzchni suszu marchwiowego przed obróbką plazmową i po niej (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 2. Elemental composition [mass %] of dried carrot surface before and after plasma treatment (n = 3, mean ± standard deviation)

Pierwiastek / Element	Kontrola / Control	Plazma 30 min / Plasma 30 min	Pierwiastek / Element	Kontrola / Control	Plazma 30 min / Plasma 30 min
C	48,77 ^a ±1,75	52,34 ^b ±1,81	Ca	0,64 ^a ±0,21	0,36 ^a ±0,21
O	38,57 ^a ±1,01	37,33 ^a ±2,11	Mg	0,52 ^b ±0,12	0,22 ^a ±0,04
K	5,68 ^b ±0,21	4,69 ^a ±0,32	Na	0,31 ^a ±0,04	0,38 ^a ±0,04
N	3,12 ^a ±0,33	3,23 ^a ±0,52	S	0,19 ^a ±0,08	0,15 ^a ±0,02
P	1,05 ^b ±0,21	0,44 ^a ±0,09	Al	0,05 ^a ±0,02	0,05 ^a ±0,01
Cl	1,05 ^a ±0,16	0,77 ^a ±0,04	Si	0,05 ^a ±0,02	0,04 ^a ±0,01

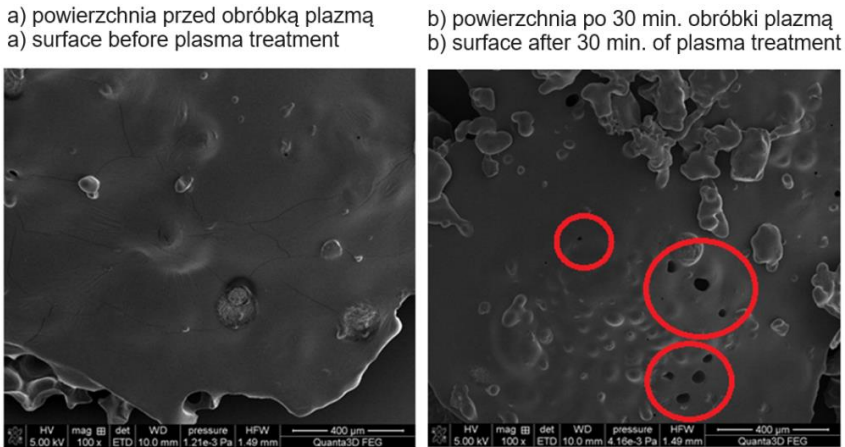
Objaśnienia / Explanatory notes:

^{a, b, c} – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

^{a, b, c} – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$

Dowody na zmiany morfologii przedstawione są na mikrofotografiach SEM (Rys. 5). Powierzchnia niepoddana obróbce plazmowej jest stosunkowo jednorodna i nie zawiera ubytków. Natomiast po 30 min plazmowania marchwi traci ciągłość i pojawiają się na niej liczne dziury będące efektem bombardowania powierzchni zimną plazmą. Efekt ten był obserwowany w każdej próbce poddanej działaniu niskotemperaturowej plazmy, ale nie występował w żadnej próbce przed obróbką plazmową. Obserwacja ta skłania do wniosku, że brak ciągłości próbek jest wynikiem działania plazmy.

Dane zestawione w tabeli 3 przedstawiają wyniki badań wartości odżywczych badanych soków marchwiowych. Zawartość substancji rozpuszczalnych (ekstraktu) w znaczącym stopniu determinuje jakość żywienia napojów, wskazując na ilość substancji rozpuszczalnych w wodzie, głównie cukrów (glukozy, fruktozy, sacharozy), substancji azotowych organicznych i nieorganicznych (potasu, wapnia, fosforu, barwników, garbników), a także nielotnych kwasów organicznych (cytrynowego czy jabłkowego). W przypadku soku kontrolnego w całym okresie przechowywania wartości



Rys. 5. Wpływ obróbki plazmowej na morfologię powierzchni suszu marchwiowego, powiększenie x100

Fig. 5. The influence of plasma treatment on the surface morphology of dried carrots, magnification x100

Tabela 3. Wpływ czasu działania plazmy na wybrane właściwości odżywcze soku marchwiowego (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 3. Effect of plasma treatment on selected nutritional properties of carrot juice (n = 3, mean ± standard deviation)

Czas działania plazmy (minuty) / Plasma operating time (minutes)	Czas przechowywania (dni) / Time of storage (days)		
	1	2	3
Ekstrakt (°Brix) / Extract (°Brix)			
0 (kontrola)	9,43 ^a ±0,06	9,50 ^a ±0,10	9,63 ^{abc} ±0,15
10	9,47 ^a ±0,06	9,53 ^{ab} ±0,06	9,77 ^{bcd} ±0,06
20	9,93 ^d ±0,06	9,83 ^{cd} ±0,06	10,00 ^d ±0,10
30	9,97 ^d ±0,12	9,87 ^{cd} ±0,06	9,83 ^{cd} ±0,06
Karotenoidy (mg/100 g) / Carotenoids (mg/100 g)			
0 (kontrola)	13,87 ^d ±0,30	11,15 ^b ±0,06	10,43 ^a ±0,06
10	13,03 ^c ±0,20	10,62 ^{ab} ±0,37	10,44 ^a ±0,16
20	14,77 ^e ±0,30	14,78 ^e ±0,06	14,04 ^d ±0,08
30	15,02 ^e ±0,08	17,52 ^f ±0,01	17,12 ^f ±0,40
Polifenole (mg/100 ml) / Polyphenols (mg/100 cm ³)			
0 (kontrola)	21,55 ^{fg} ±0,50	17,97 ^d ±0,17	16,72 ^{ab} ±0,17
10	20,83 ^f ±0,04	17,31 ^{abc} ±0,91	17,48 ^{bc} ±0,26
20	22,27 ^g ±0,35	18,68 ^d ±0,39	16,39 ^a ±0,13
30	24,29 ^h ±0,26	21,20 ^f ±0,09	19,85 ^c ±0,22

Objaśnienia / Explanatory notes:

a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$

ekstraktu zawierały się w przedziale $9,4 \div 9,8$ °Brix. Nieznaczny wzrost zawartości ekstraktu w sokach poddanych działaniu zimnej plazmy można tłumaczyć utratą wody podczas obróbki.

Karotenoidy to grupa związków, które nie tylko nadają apetyczny wygląd warzywom czy owocom, ale także ze względu na właściwości antyoksydacyjne mają istotne znaczenie dla zdrowia człowieka. W pierwszym dniu badań kontrolny sok marchwiowy odznaczał się zawartością karotenoidów równą $13,87$ mg/100 g, natomiast obróbka plazmą przez 30 minut spowodowała nieznaczny wzrost zawartości tych związków.

Czas przechowywania wynoszący 3 dni spowodował zmniejszenie (w porównaniu z sokiem z pierwszego dnia) ilości badanych związków o blisko 25 % w przypadku soku kontrolnego. Natomiast w próbkach napoju traktowanego zimną plazmą przez 30 minut zaobserwowano zwiększenie zawartości karotenoidów o 13 %. Może być to skutkiem zwiększonej ekstrakcji barwników z matrycy tkanki surowca. Wzrost zawartości karotenoidów w pomidorach w wyniku nietermicznej obróbki pulsacyjnym polem elektrycznym opisali González-Casado i wsp. [7].

W kształtowaniu właściwości przeciwutleniających napojów istotną rolę odgrywają również związki zaliczane do grupy polifenoli. Świeżo tłoczony sok marchwiowy po 1 dniu przechowywania cechował się średnią ilością tych antyoksydantów wynoszącą $21,55$ mg/100 cm³, która to wartość po 3 dniach spadła o blisko 22 %. Najwyższą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się soki poddane działaniu plazmy przez 30 minut w pierwszym dniu analiz. Jednak ich ilość w czasie 72 godzin obniżała się o przeszło 18 % w stosunku do wartości początkowych. W niektórych owocach część związków fenolowych jest związana z błoną komórkową i do ich uwolnienia potrzeba pewnego nakładu energii. Jak podają Hau i in. [9] zwiększenie zawartości polifenoli w sokach poddanych obróbce zimną plazmą może być wynikiem rozpadu wiązań kowalencyjnych i błon komórkowych pod wpływem chemicznie reaktywnych związków, naładowanych cząsteczek i promieniowania UV powstających w trakcie działania zimnej plazmy.

Wnioski

1. Zastosowana obróbka soku marchwiowego zimną plazmą poprawiła jego jakość mikrobiologiczną w stosunku do próby kontrolnej. Traktowanie soku plazmą przez 20 i 30 minut pozwoliło otrzymać produkt zgodny z wymaganiami zawartymi w Codex Standards w odniesieniu do zawartości całkowitej liczby tlenowych mikroorganizmów mezofilnych w soku jadalnym.
2. W wyniku traktowania soku zimną plazmą przez 30 minut uzyskano produkt charakteryzujący się lepszą stabilnością koloidalną oraz wyższą zawartością karotenoidów i polifenoli niż w próbie kontrolnej.

3. Wyniki wskazują, że 30-minutowa obróbka zimną plazmą z zastosowaniem reaktora Glide-arc pozwala wydłużyć trwałość przechowalniczą soku marchwiowego, który dodatkowo charakteryzuje się zwiększoną stabilnością koloidalną i wartością odżywczą, stąd też ma potencjał do praktycznego zastosowania w przemysłowej produkcji soków i innych napojów.

Projekt został sfinansowany przez Związek Uczelni Lubelskich z programu pn. „INTERPROJEKT” grant no. INT/004/2022/I-N. Autorzy dziękują uczestnikom inicjatyw COST CA19110 (Plasma applications for smart and sustainable agriculture), COST CA20114 (Therapeutical applications of Cold Plasmas) oraz CEEPUS CIII-AT-0063 za owocne dyskusje naukowe w obszarze dekontaminacji plazmowej.

Literatura

- [1] Boenig H.: Plasma science and technology. Cornell University Press, 2019.
- [2] Brust H., Wannicke N., Park G.: (2023). Agriculture and Food Processing Applications. In: Plasma Biosciences and Medicine. Eds. E.H. Choi. Springer Singapore, 2023, pp.111-227.
- [3] Dasan B.G., Boyaci I.H.: Effect of cold atmospheric plasma on inactivation of *Escherichia coli* and physicochemical properties of apple, orange, tomato juices, and sour cherry nectar. Food Bioproc. Technol., 2018, 11, 334-343.
- [4] de Castro D.R.G., Mar J.M., da Silva L.S., da Silva K.A., Sanches E.A., de Araújo Bezerra J., Campelo P.H.: Dielectric barrier atmospheric cold plasma applied on camu-camu juice processing: Effect of the excitation frequency. Food Res. Int., 2020, 131, 109044.
- [5] Fernandes F.A., Rodrigues S.: Cold plasma processing on fruits and fruit juices: A review on the effects of plasma on nutritional quality. Processes, 2021, 9(12), 2098.
- [6] Florescu I., Radu, I., Teodoru A., Gurau, L., Chireceanu, C., Bilea F., Magureanu M.: Positive Effect Induced by Plasma Treatment of Seeds on the Agricultural Performance of Sunflower. Plants, 2023, 12, 794.
- [7] González-Casado S., Martín-Belloso O., Elez-Martínez P., Soliva-Fortuny R.: Enhancing the Carotenoid Content of Tomato Fruit with Pulsed Electric Field Treatments: Effects on Respiratory Activity and Quality Attributes. Postharvest Biol. Technol., 2015, 137, 113-118.
- [8] Guo J., Huang K., Wang J.: Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. Food Control, 2015, 50, 482-490.
- [9] Hou Y., Wang R., Gan Z., Shao T., Zhang X., He M., Sun, A.: Effect of cold plasma on blueberry juice quality. Food Chem., 2019, 290, 79-86.
- [10] Kučerová K., Henselová M., Slovákova L., Bačovčinová M., Hensel K.: Effect of plasma activated water, hydrogen peroxide and nitrates on lettuce growth and its physiological parameters. Appl. Sci. 2021, 11(5), 1985.
- [11] Lachowicz S., Kolniak-Ostek J., Oszmiański J., Wiśniewski R.: Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Bear Garlic (*Allium Ursinum* L.) in Different Maturity Stages. J. Food Process. Preserver, 2017, 41, e12921.

- [12] Mandal R., Singh A., Singh A.P.: Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 2018, 80, 93-103.
- [13] Morabit Y., Hasan M.I., Whalley R.D., Robert E., Modic M., Walsh J.L.: A review of the gas and liquid phase interactions in low-temperature plasma jets used for biomedical applications. *Eur. Phys. J. D*, 2021, 75, 1-26.
- [14] Niedźwiedz I., Waško A., Pawłat J., Polak-Berecka M.: The state of research on antimicrobial activity of cold plasma. *Polish J. Microbiol.*, 2019, 68(2), 153-164.
- [15] Niveditha A., Pandiselvam R., Prasath V.A., Singh S.K., Gul K., Kothakota A.: Application of cold plasma and ozone technology for decontamination of *Escherichia coli* in foods-a review. *Food Control*, 2021, 130, 108338.
- [16] Ozen E., Singh R.K.: Atmospheric cold plasma treatment of fruit juices: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2020, 103, 144-151.
- [17] Pawłat J.: Atmospheric pressure plasma jet for decontamination purposes. *Eur. Phys. J. – Appl. Phys.*, 2013, 61(2), 24323.
- [18] Platta A., Śmigaj, K.: Ocena akceptacji żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2021, 28, 3(128), 117-132.
- [19] Puač N., Škoro N., Spasić K., Živković S., Milutinović M., Malović G., Petrović Z.L.: Activity of catalase enzyme in *Paulownia tomentosa* seeds during the process of germination after treatments with low pressure plasma and plasma activated water. *J. Plasma Proc. Polym.*, 2018, 15(2), 1700082
- [20] Sohbatzadeh F., Yazdanshenas H., Soltani A.H., Shabannejad A.: An innovative strategy to rapidly inactivate 8.2-log *Enterococcus faecalis* in fresh pineapple juice using cold atmospheric plasma. *Sci. Rep.*, 2021, 11(1), 16010.
- [21] Starek A., Pawłat J., Chudzik B., Kwiatkowski M., Terebun P., Sagan A., Andrejko D.: Evaluation of selected microbial and physicochemical parameters of fresh tomato juice after cold atmospheric pressure plasma treatment during refrigerated storage. *Sci. Rep.*, 2019, 9(1), 8407.
- [22] Starek-Wójcicka A., Sagan A., Terebun P., Kwiatkowski M., Osmólska E., Krajewska M., Pawłat J.: Quality of Tomato Juice as Influenced by Non-Thermal Air Plasma Treatment. *Appl. Sci.*, 2022, 13(1), 578.
- [23] Suspension Stability: The importance of zeta potential, particle size and rheology. [on line]. Malvern Panalytical. Dostęp w Internecie [19.09.2023].
- [24] Trebulová K., Krčma F., Skoumalová P., Kozáková Z., Machala Z.: Effects of different cold atmospheric-pressure plasma sources on the yeast *Candida glabrata*, *Plasma Process. Polym.*, 2023, e2300048.
- [25] Waghmare R.: Cold plasma technology for fruit based beverages: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2021, 114, 60-69.
- [26] Wiktor A., Śledź M., Nowacka M., Witrowa-Rajchert D.: Możliwości zastosowania niskotemperaturowej plazmy w technologii żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 5(90), 5-14.


THE EFFECT OF COLD ATMOSPHERIC PLASMA TREATMENT ON THE QUALITY OF FRESH PRESSED CARROT JUICE

S u m m a r y

Introduction. The growing interest of consumers in purchasing minimally processed food that retains various bioactive ingredients has led to the need to investigate the impact of a new low-temperature

preservation method on the quality characteristics of freshly pressed carrot juice (Nerac variety). The influence of plasma gas (air) generated in a Glide-arc reactor operating at atmospheric pressure on microbiological, physicochemical and structural changes in product samples was analyzed. Three groups of juices characterized by different exposure times to plasma (10, 20, 30 minutes) and untreated juice (control) were used for the study. The properties of the juices were assessed after 1, 2 and 3 days of storage in a refrigerator at 6 °C.

Results and conclusions. The tests showed that the juices exposed to plasma for 20 and 30 minutes were characterized by good, stable microbiological quality even after 3 days of refrigerated storage. Compared to the control sample, an increase in colloidal stability and, what is important, in the content of the extract, carotenoids and polyphenols was also observed in the products. An EDX analysis showed that the elemental compositions of the samples before and after plasma plating did not differ qualitatively, but there were slight quantitative differences. However, in all the samples of juice treated with cold plasma, a slight reduction in the brightness of the products and the chromaticity indices a^* and b^* was observed. In general, the results of the conducted research indicate that cold plasma treatment is a promising technique that can ensure better quality and greater colloidal stability during the processing of carrot juice, and the product treated in this way is characterized by better physicochemical properties and a greater amount of bioavailable nutrients.

Key words: freshly pressed carrot juice, cold plasma, microbiological stability, nutritional values, colloidal stability, zeta potential 

AGATA JABŁOŃSKA, MARCIN KRUK, SZYMON POCHYLSKI, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA

THE USEFULNESS OF FERMENTED KOMBUCHA TEA FOR THE PRODUCTION OF LOW-ALCOHOLIC DRINKS

S u m m a r y

Background. Consumers' growing interest in fermented food contributes to the development of the market in functional drinks, which are rich in biologically active compounds that positively affect the human body. One of such drinks is the fermented Kombucha tea, appreciated for its taste and beneficial health properties. The study aimed to select suitable yeast starter culture for the production of fermented low-alcohol beverages based on Kombucha having good microbiological and sensory quality and high antioxidant activity. The scope of the research included developing a technological process for the Kombucha tea drink with the addition of wine, brewing and probiotic yeast, and subsequently, determining the quality of the designed drinks. The research methodology included the analysis of pH value, alcohol content, microbiological analysis, antioxidant activity, total polyphenol content and a sensory analysis.

Result and conclusion. Based on the research conducted, it was found that obtaining low-alcohol fermented beverages based on Kombucha is possible, and the quality of these products depended on the yeast starter cultures. They significantly impacted all the tested parameters of the final products. The low-alcohol drinks obtained were characterized by a low level of alcohol and a high content of antioxidant compounds, as well as the desired microbiological and sensory quality. The results obtained are a pilot for further research into the usefulness of fermented Kombucha tea for the production of low-alcohol beverages.

Key words: Kombucha, yeast starter cultures, low-alcohol fermented beverages, antioxidant activity, polyphenols

Introduction

Kombucha, a fermented tea drink, is gaining more and more interest among consumers due to its sensory and health-promoting properties [3]. The raw material for the production of Kombucha is green and black tea with added sugar. These ingredients are the basis for starting a fermentation process with a symbiotic starter culture -

Dr inż. K. Neffe-Skocińska ORCID: 0000-0003-3767-6613; inż. A. Jabłońska; mgr inż. M. Kruk ORCID: 0000-0002-9133-0122; inż. Szymon Pochylski, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa. Kontakt: e-mail: katarzyna_neffe_skocinska@sggw.edu.pl

SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). SCOBY includes acetic acid bacteria (AAB), yeast and lactic acid bacteria (LAB). As a result of the properly conducted fermentation process, the Kombucha drink acquires the characteristic features of a refreshing, slightly sweet and slightly sour product [15]. Kombucha is a source of bioactive compounds such as organic acids, minerals, vitamins, polyphenols and antioxidant compounds [30]. The glucuronic acid (GlcUA) contained in the drink increases the bioavailability of polyphenols [15] that participate in the prevention of chronic non-communicable diseases and affect the composition of the intestinal microbiome [27]. The chemical composition of Kombucha has high antioxidant potential that reduces the occurrence of oxidative stress [27]. The consumption of functional fermented beverages can positively affect the human body [22].

Non-alcoholic or low-alcohol drinks, such as beer or wine, are becoming more and more popular and can replace other alcoholic products. According to the current guidelines, an alcoholic beverage is a product intended for consumption containing ethyl alcohol of agricultural origin in a concentration exceeding 0.5 % alcohol by volume. On the other hand, a low-alcohol beverage is a product with an alcohol content by volume not exceeding 1.2 %. However, beer contains about 5 % alcohol on average. There is a lack of sufficient legal regulations on this topic, and classifying these products as typically alcoholic beverages causes several legal doubts, especially regarding their naming and labelling [11, 19]. Fermented tea drink Kombucha produced in industrial conditions according to a fixed and repeatable recipe may contain 0.5 % alcohol [29]. Due to the ethanol content in their composition, the described drinks are not intended for all consumer groups, e.g. small children or pregnant women. This topic needs more research to determine precise possibilities and limitations of consumption of this beverage for the aforementioned consumer groups.

Starter cultures for food production are defined as preparations of live and safe microorganisms that are used for the fermentation process [17]. In recent years, there has been a trend in food microbiology to study microorganisms with different activity properties in starter cultures [13]. Nowadays, consumers interested in a healthy lifestyle expect the brewing industry to provide healthier alternatives to mass products [28]. Therefore, the proposal of Kombucha as a raw material base with selected yeast starter cultures for low-alcohol beverages is a promising solution.

The study aimed to select a yeast starter culture for fermented low-alcohol beverages based on Kombucha of good microbiological and sensory quality and high antioxidant activity.

Materials and methods

The material for the study was Kombucha prepared from raw materials such as Sencha green tea (Eat K. Augustowicz, Poland), sucrose (Diamant, Anabru, Poland),

brewing and wine yeast (Tab. 1) and the SCOBY-SGGW starter culture (collection of the Department of Hygiene and Food Quality Management, Warsaw University of Life Sciences). SCOBY-SGGW is cultivated continuously according to Neffe-Skocińska et al. [22], and the medium is replaced with a new one every 10 days [21]. SCOBY-SGGW was created from the spontaneous fermentation of infusion of mixed black and green tea with sugar.

The study included six variants of low-alcohol beverages produced in the Kombucha fermentation process with wine, brewing and probiotic yeasts. The characteristics of starter cultures and the designations of the research samples are presented in Table 1.

Table 1. Classification of tested yeast strains

Tabela 1. Klasyfikacja badanych szczepów drożdży

Sample / Próbka	Species of yeast starter culture / Gatunek kultury startowej drożdży	Sample characteristics / Charakterystyka próbki	Year of purchase / Rok zakupu
K	-	Control sample/ Próbka kontrolna - Kombucha	-
S.b.	Probiotic yeast / Drożdże probiotyczne <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 (Enterol, Biocodex, Gentilly, France/ Francja)	2021
M12	Brewer's yeast / Drożdże piwowskie <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	Mangrove Jack's Kveik M12 (Mangrove Jack's, Auckland, New Zealand/ Nowa Zelandia)	2021
M21		Mangrove Jack's Belgian Wit M21 (Mangrove Jack's, Auckland, New Zealand/ Nowa Zelandia)	2021
M29		Mangrove Jack's French Saison M29 (Mangrove Jack's, Auckland, New Zealand/ Nowa Zelandia)	2021
M44		Mangrove Jack's US West Coast M44 (Mangrove Jack's, Auckland, New Zealand/ Nowa Zelandia)	2021
CK S102	Wine yeast / Drożdże winiarskie <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	CK S102 LeMag (LeMag, Żyrardów, Poland / Polska)	2021

The technological process of preparing low-alcohol beverages consisted of three stages (Figure 1). In the first stage of the experiment, the Kombucha was prepared for further research. Tap water, Sencha leaf green tea (Eat K. Augustowicz sp. j., Poland) (8 g/1,000 cm³), sucrose (70 g/1,000 cm³) and SCOBY-SGGW starter culture (50 g/1,000 cm³) were used. Water having a temperature of 90 °C was poured over tea leaves and sucrose, and brewed for 10 minutes. The infusion was separated from the tea leaves and cooled to 25 °C. The infusion obtained was inoculated with SCOBY starter culture. The fermentation was carried out for 6 days at 25 °C in laboratory conditions. The second stage was to carry out the fermentation process of the drink ob-

tained using strains of yeast. The yeast was activated from a bank of pure cultures (-80 °C) on YGC agar medium at 25 °C for 3 days (Millipore, Poland). One colony of each yeast strain was transferred to a sterile malt extract solution (5 g malt extract/100 g H₂O, NeoGen, Poland) to propagate the yeast to 6 log CFU/ mL. Before adding yeast to Kombucha, the malt extract was centrifuged and replaced with a Kombucha drink. The initial number of added yeast in the Kombucha was 6 log CFU/ cm³. Conical flasks with stoppers and fermentation tubes were used to ferment the beverages. The third stage of the process was maturing of beverages to obtain the final products at 8 °C for 4 months and limited access to light.

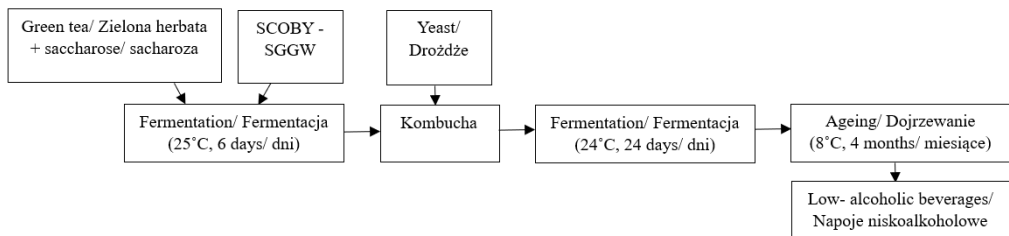


Fig. 1. Scheme of the technological process of the low-alcoholic beverages obtained
Rys. 1. Schemat procesu technologicznego uzyskanych napojów niskoalkoholowych

pH value

The analysis was determined by measuring the pH of the beverage using a pH meter (Orion Star™ A211; Thermo Fisher Scientific, Poland) according to the device manual.

Alcohol content

The alcohol content was determined by the calculation method according to the Balling formula (Equation 1). °B_{lg} measurements were made using a hydrometer (Al-la; France). The initial extract of the Kombucha beverage before fermentation and after the maturation process was measured.

$$E = \frac{100 \times A \times 2.066 + Er}{100 + A \times 1.066}$$

Equation 1. Balling's formula

Równanie 2. Wzór Ballinga

Explanatory notes / objaśnienia: E – basic wort extract in % by weight; A – alcohol concentration in % by weight; Er – actual extract in the finished drink in % by weight; 2.066 - relationship between the extract and alcohol, 1 g of alcohol is made from 2.066 g of the extract; 1.066 – loss of extract during fermentation per one gram of alcohol produced / E – ekstrakt brzezki podstawowej w % wagowo; A – stężenie alkoholu w % wagowo; Er – ekstrakt rzeczywisty w gotowym napoju w % wagowo; 2,066 – zależność między

ekstraktem a alkoholem, 1 g alkoholu powstaje z 2,066 g ekstraktu; 1,066 – ubytek ekstraktu w trakcie fermentacji przypadający na jeden wytworzony gram alkoholu

Microbiological analysis

The enumeration of AAB bacteria and yeast was performed by plate inoculation method. After the maturation process, 1 mL samples were taken from the beverages. Serial dilutions were performed in sterile peptone water (Millipore; Poland). The inoculation was made on Petri dishes with GCA medium for AAB prepared according to the recipe of Neffe-Skocińska et al. [21] and on YGC medium (Millipore, Poland) intended for yeast cultivation. Incubation was carried out for 72 hours at 25 °C. The results are expressed as the logarithm of the colony-forming units per milliliter of products (log CFU/ mL).

Antioxidant activity

Antioxidant activity was measured by the method according to Re et al. (1999) with modification. ABTS⁺⁺ radicals (2,2'-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (Sigma-Aldrich, Poznań, Poland). ABTS⁺⁺ was prepared 24 hours before the assay by mixing inactive ABTS radicals (7 mM/dm³) with K₂S₂O₈ (2.45 mM/dm³) (Sigma-Aldrich, Poznań, Poland) and stored at room temperature for 24 hours [23]. Immediately before assay ABTS⁺⁺, the solution was diluted with PBS to an absorbance of 0.7 ± 0.02. 50 µl of each tested sample and 150 µl of the ABTS⁺⁺ radical solution were poured into a well of a 96-well polystyrene plate with a volume of 1 well of 300 µl. The radical scavenging reaction was carried out for 6 minutes, and subsequently, measured at 734 nm with a reader SpectraMax iD3 (Molecular Devices, USA). The results were expressed as vitamin C equivalent in mg per 100 cm³ (VCEAC mg / 100 cm³). The analysis was carried out in five replicates.

Total polyphenol content (TPC)

The samples were diluted in demineralized water. A 20 µl portion of the prepared sample dilution was poured into a 96-well plate (NEST Biotechnology; Wuxi, China), and 100 µl of Folin-Ciocalteu (F-C) reagent (Chempur, Piekary Śląskie, Poland) was added. The plate was left for 5 minutes at room temperature in the dark. Subsequently, 80 µl of a solution of 7.5 g/100 cm³ of sodium carbonate (Chempur, Piekary Śląskie, Poland) was poured into the wells. The samples were mixed for 5 minutes at 150 rpm and left for 2 hours in the dark. The analysis was performed at a wavelength of λ = 750 nm using the SpectraMax iD3 reader (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). The samples were mixed for 1 minute in SpectraMax iD3 before measurement. The experiments were carried out in five independent replicates. The results were expressed as gallic acid equivalent in mg per 100 cm³ (GAE mg / 100 cm³).

Sensory analysis

The prepared beverage samples were analyzed using the QDP method (Quantitative Descriptive Profiles) according to the ISO 13299:2016 standard. The tested samples were placed in transparent, disposable lided containers with a capacity of 25 mL. All the samples were randomly coded and given to the raters in random order. The intensity of the determinants was assessed using a structured linear scale (0 ÷ 10). Before the sensory analysis, the evaluating team was trained using the QDP method. Each of the experts for sensory evaluation had at least 5 years of experience in examination using this method. The sensory characteristics of the odor were citrus, cider, tea sweet, fermentation, autolytic and yeast. The sensory characteristics of the flavor were citrus, cider, tea sweet, sour, bitter, autolytic and additionally overall quality. Between the evaluated trials, the experts got still water to neutralize the flavors. The analyses were performed in six independent replicates.

Statistical analysis

The statistical analysis of the results was carried out using Statistica 13.3 (StatSoft, Kraków, Poland) and Microsoft Excel 2019 (Microsoft; Redmond, WA, USA). Means and standard deviations were calculated. The homogeneity of the variance and the normality of the distribution of the results were checked. If the data was parametric, an analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test was performed. If the data was non-parametric, the Kruskal-Wallis rank ANOVA test was used.

Results and discussion

Starter cultures may contain only live, defined and specially selected microorganisms with the American GRAS (Generally Recognized as Safe) status and also entry by the European Food Safety Authority on the QPS (Qualified Presumption of Safety) list. Starter cultures consist of selected strains of bacteria, mold or yeast. Their use in food production is always purposeful to obtain specific sensory, microbiological and physicochemical properties in the finished product.

Yeast is responsible for the sensory characteristics of alcoholic beverages such as wines, beers, ciders or others. The focus was on the influence of the yeast strains that differed in their metabolic properties and changed the sensory characteristics and composition of alcoholic beverages like antioxidant capacity, alcohol content, extract reduction and polyphenol variation. Various strains of *Saccharomyces cerevisiae* were used to prepare the drinks. The yeast utilized had different fermentation properties, such as tolerance to low pH value, alcohol production level, carbohydrates fermentation properties and specificity of aromatic compound production. Further, the probiotic

yeast strain *Saccharomyces boulardii* was used to compare its usefulness with commercial yeast strains.

The lowest number of yeast was found in the case of the variant *S. cerevisiae* var. *boulardii*, averaging $2.9 \log \text{CFU}/\text{cm}^3$ beverage. This result does not allow to define this beverage as a product with probiotic features, where the minimum concentration of live probiotic cells is at an average level of $6 \log \text{CFU}/\text{cm}^3$ [10].

The analysis of pH values verified the correct fermentation process in the tested beverages. The results of the pH value (Table 2) of the fermented beverages obtained differed significantly ($p < 0.05$). The control variant, i.e. Kombucha (K), was characterized by the highest pH value. A similar pH value to Kombucha was obtained by the sample referenced with brewing yeast M29 (pH = 3.5). The beverages with wine yeast CKS102 and probiotic *S.b.* had a pH value of 3.4. The lowest pH value (pH = 3.3) had samples with brewing yeast (M12, M21, and M44). The yeast strains significantly changed the pH value of the designed beverages ($p < 0.05$). The addition of yeast to a Kombucha-type drink slowed down the process of acidification of drinks. This most likely affected the fermentation activity of the native microflora of this drink, which is mainly responsible for the synthesis of organic acids [22]. Although yeast produces organic acids causing the acidification of the environment, it does not synthesize them in large quantities [14]. The organic acids in fermented beverages are associated with health-promoting properties [31].

It should be noted that the alcohol content is approximate for all samples due to the high measurement error of the method used. Nevertheless, the obtained values indicate the percentage of sugar attenuation from the medium and the fermentation capacity of individual yeast strains. The alcohol content in the designed beverages was 2.5 % (samples M12, M29) and 3.0 % (samples M21, M44, CK S102, *S.b.*) presented in Table 2. The M12 and M29 strains were characterized by lower ethanol synthesis. According to Stachowiak et al. [28], low-alcohol beers are those that contain approximately 1 ÷ 3.5 % (v/v) of alcohol. The content of ethanol in the analyzed samples is related to the strain dependency of the yeast. This coincides with the results of the microbiological analysis (Table 2). There was a significant difference ($p < 0.05$) in the number of yeast in the final products. The highest number of yeast was recorded in sample M44 with brewer's yeast ($5.18 \log \text{CFU}/\text{cm}^3$), and the lowest in the sample with probiotic yeast *S.b.* ($2.89 \log \text{CFU}/\text{cm}^3$). This result also demonstrates the excellent adaptation of the M44 brewing strain to the proposed Kombucha-based beverages in terms of survivability, low pH tolerance and fermentation properties. *S. cerevisiae* is a model microorganism used in the fermentation of beverages such as wine, beer and cider. It shows the ability to process glycolysis and ethanol fermentation [26]. In the study, the probiotic strain *S.b.* did not show technological usefulness at the same level as wine and brewing yeast. Specific fermentation conditions such as temperature, time

and type of raw material used are important factors affecting the number of probiotic microorganisms in the production of fermented beverages. Scientists showed that *S. boulardii* optimally grows at 37 °C and pH 4.5 ÷ 6.5 [6, 8]. Other researchers applied *S. boulardii* to beer beverages, however, the products had low quality. The strain used caused the deterioration of the quality of the prepared beverages, the destabilization of the fermentation process and the excessive production of aldehydes, esters and aliphatic and aromatic alcohols, which changed the quality of the beverages [7].

Table 2. Summary of results: alcohol content, pH value, number of yeast (n = 3) in the final product
Tabela 2. Podsumowanie wyników: zawartość alkoholu, wartość pH, liczba drożdży (n = 3) w produkcie

Sample / Próbka	Initial Blg / Początkowe Blg	Final Blg / Końcowe Blg	Approximate content EtOH / Przybliżona zawar- tość EtOH	pH	The number of yeast [log CFU/cm ³] / Liczba drożdży [log jtk/cm ³]
K	6	-	-	3.6 ^a ±0.0	-
M12	6	1	2.5 %	3.3 ^b ±0.0	4.3 ^{ab}
M21	6	0.1	3.0 %	3.3 ^b ±0.1	4.2 ^{ab}
M29	6	1	2.5 %	3.5 ^a ±0.1	4.6 ^b
M44	6	0.1	3.0 %	3.3 ^b ±0.0	5.2 ^c
CK S102	6	0.1	3.0 %	3.4 ^c ±0.0	4.4 ^{ab}
<i>S.b.</i>	6	0.1	3.0 %	3.4 ^c ±0.0	2.9 ^a

Explanatory notes / objaśnienia:

CFU- Colony Forming Unit / jtk- jednostki tworzące kolonie / Letters a, b, c mean the statistical difference between samples in Tukey's post-hoc test ($p < 0.05$) ANOVA / Litery a, b, c oznaczają statystyczną różnicę między próbkami w teście post-hoc Tukeya ($p < 0,05$)

The presence of AABs, the natural microflora of Kombucha, was not detected in the tested samples. The AABs may have been inactivated during the maturation process. Similar observations were found in the study of Da Silva et al. [4], which concerned an innovative fermented beer based on Kombucha.

The samples were tested for antioxidant activity and the total polyphenol content (Figure 3). Statistical significance ($p < 0.05$) was demonstrated between the samples from both analyses. The highest content of antioxidant compounds and total polyphenols was detected in the beverage with wine yeast CK S102 (41.87 mg VCEA/100 cm³; 100.82 GAE/100 cm³). The probiotic yeast used (*S.b.*) had a significant effect on the antioxidant activity and polyphenol content. Capece et al. [2] used *S. boulardii* for fermentation craft beers. The study showed that probiotic strains determined an increase in antioxidant properties and polyphenol content in beer. Similar results were obtained by Mulero-Cerezo et al. [18], where the antioxidant activity was

significantly higher in beer fermented with probiotic yeast. The M21 sample had the lowest antioxidant activity (38.41 mg VCEA/100 cm³) and the lowest content of polyphenols (93.44 mg GAE/100 cm³). The results are related to the strain feature regarding the metabolic properties of the M21 yeast strain. This strain has low fermentability and is commercially used to produce light wheat beers. Moreover, some authors note that the alcohol level can influence the antioxidant capacity of the material studied. In this study, this dependence did not exist, and only metabolic differences between yeast strains influenced the results [9, 20].

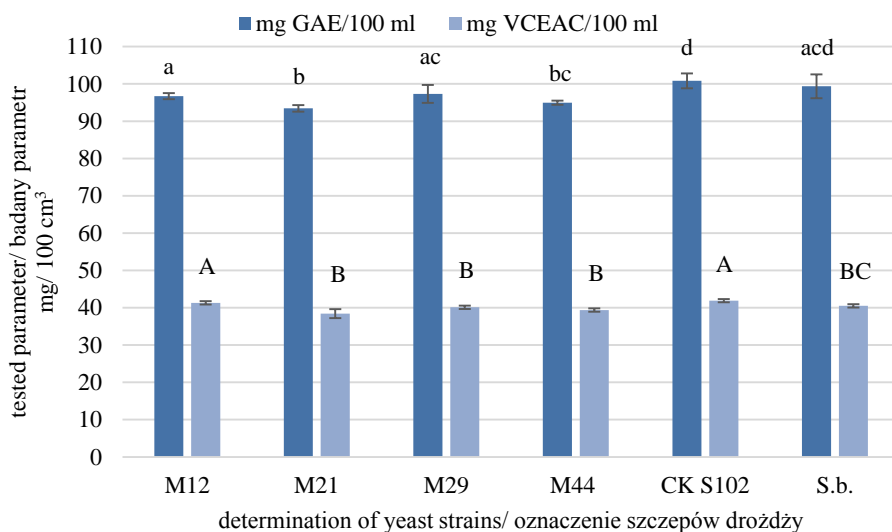


Fig. 3. Antioxidant activity [mg VCEAC/ 100 cm³] and total polyphenol content [mg GAE/ 100 cm³], n = 6

Rys. 3. Aktywność antyoksydacyjna [mg VCEAC/ 100 cm³] i zawartość polifenoli ogółem [mg GAE/ 100 cm³], n = 6

Explanatory notes / objaśnienia:

VCEAC [mg/ 100 cm³] - vitamin C equivalent, GAE [mg/ 100 cm³] - gallic acid equivalent / VCEAC [mg/ 100 ml] - ekwiwalent witaminy C, GAE [mg/ 100 cm³] - ekwiwalent kwasu galusowego / Letters A, B, C mean the statistical difference between the samples in the analysis of antioxidant activity ($p < 0.05$) / Litery A, B, C oznaczają statystyczną różnicę między próbkami w analizie aktywności antyoksydacyjnej ($p < 0,05$) / Letters a, b, c, d mean the statistical difference between the samples in the analysis of polyphenol content ($p < 0.05$) / Litery a, b, c, d oznaczają statystyczną różnicę między próbkami w analizie zawartości polifenoli ($p < 0,05$) / Kruskal-Wallis statistical ANOVA test of ranks was used / Zastosowano test statystyczny- ANOVA rang Kruskala-Wallisa / Error bars represent standard deviation/ Słupki błędów oznaczają odchylenie standardowe

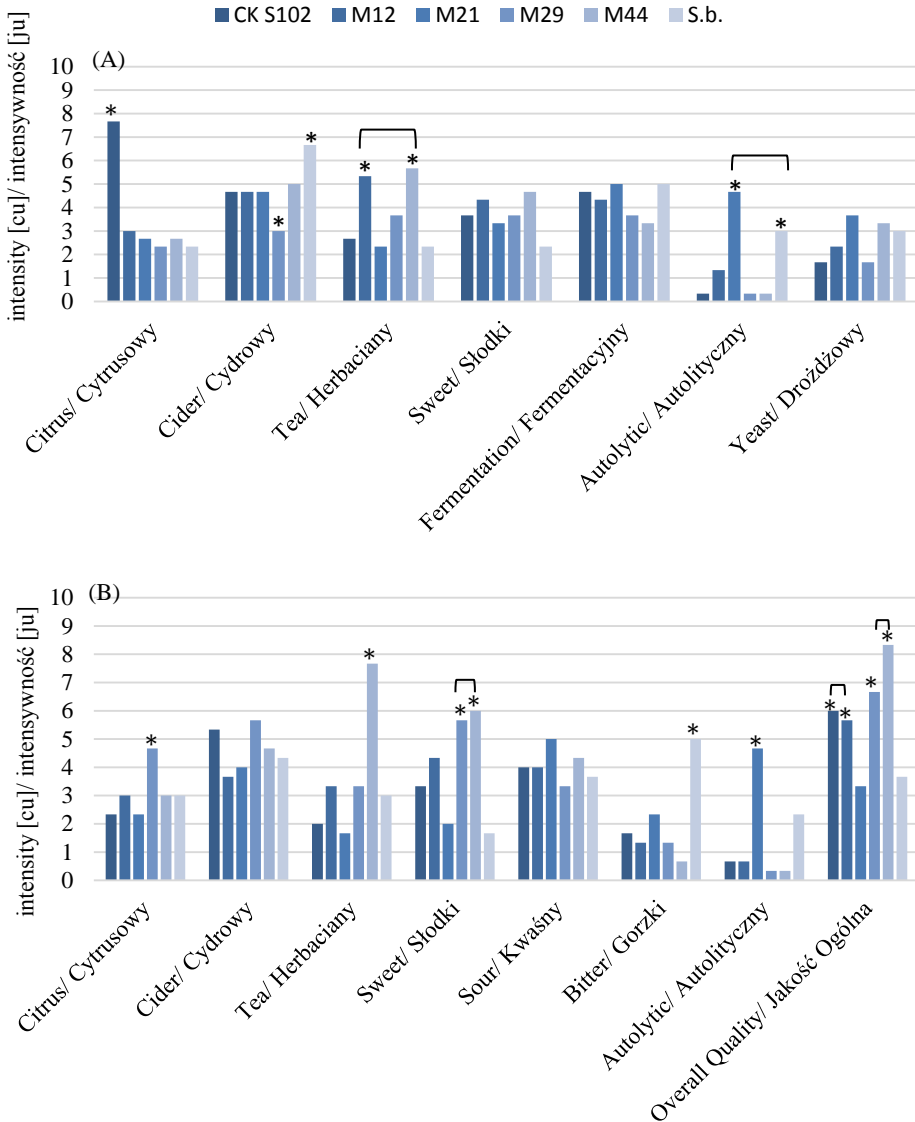


Fig. 4A, B. Results of sensory analysis – smell (A), taste and general quality (B) of the tested samples
 Rys. 4A, B. Wyniki analizy sensorycznej – zapachu (A), smaku i jakości ogólnej (B) badanych próbek
 Explanatory notes / objaśnienia:

cu- conventional units / ju- jednostki umowne / *- mean the statistical difference between samples in Tukey's post-hoc test ($p < 0.05$) ANOVA / *- oznaczają statystyczną różnicę między próbkami w teście post-hoc Tukeya ($p < 0.05$) ANOVA/ brackets indicate no differences between selected samples / klamry wskazują na brak różnic pomiędzy zaznaczonymi próbkami

In addition, *S. cerevisiae* synthesizes phenolic compounds with high antioxidant potential [26]. A study by Datta et al. [5] showed that probiotic strains of *S. boulardii*, compared to other *S. cerevisiae*, are richer in polyphenolic metabolites. This reflects the antioxidant capacity of these microorganisms. In terms of health-promoting properties, the study by Datta et al. [5] highlights the potential of using probiotic yeast in the industrial production of fermented beverages.

A sensory analysis of the odor (Figure 4A), flavor and overall quality (Figure 4B) of the designed fermented beverages showed a statistical difference ($p < 0.05$) between the tested samples. The intensity of the citrus odor was most noticeable for the CK S102 sample (7.67 cu). The wine yeast tested has a dry sensory profile and is used in white wines and dry ciders [12]. The highest tea odor intensity was determined for M12 (5.33 cu) and M44 (5.67 cu), thus indicating no differences between the selected samples. The M21 (4.67 cu) and *S.b.* samples showed no significant difference in the autolytic odor. (3.00 cu). However, the sensory profile of the samples fermented with probiotic yeast (*S.b.*), low overall quality was obtained. An intensely autolytic odor and taste and a bitter taste were observed.

The highest overall quality was obtained by the M44 sample (8.33 cu). Additionally, M44 had the most intense tea flavor (7.67 cu). This sample had the highest intensity of the sweet flavor. Bingman et al. [1] indicate that brewer's yeast, with characteristics in common with the M44 strain, including a delicate profile of volatile compounds and medium fermentation of must sugars, is a good choice for the production of cider with a slightly sweet and floral aroma. At the same time, the orientation of the flavor and aroma profile of the beverages through fermentation with yeast made the M44 sample similar to well-known and gaining popularity ciders [1]. This effect most probably contributed to the high overall quality assessment of the designed M44 beverage. The selection of the appropriate yeast strain affects the characteristics of the fermented beverage obtained, which is related to the metabolic pathways of aromatic and flavor compounds [22].

Conclusion

1. It was demonstrated that the best starter culture for low-alcohol fermented beverages based on Kombucha is wine strain yeast CK S102. It was possible to obtain a product with good antioxidant capacity, a high content of polyphenols and high sensory quality with a noticeable hint of citrus aroma and cider flavor.
2. It was found that the M44 strain produced a Kombucha-based fermented beverage with an alcohol content of 3 % and the best sensory quality and antioxidant potential out of all the four brewing yeast starter cultures used.
3. Probiotic yeast *S. cerevisiae* var. *boulardii* for Kombucha-based alcoholic beverages did not show technological usefulness. The product had comparable antioxi-

dant potential to CK S102, the worst sensory quality and a low number of yeast cells, without ensuring the probiotic effect of such a product.

4. The designed fermented beverages with a low alcohol content, high antioxidant potential and good sensory quality may be a better alternative to commercial alcohol products. It is necessary to conduct further research to select the appropriate yeast strain and obtain the desired chemical composition of the beverage.

Acknowledgments

The research was financed and performed as part of a project in 2022 by the Scientific Student Group of Human Nutrition at the Warsaw University of Life Sciences.

References

- [1] Bingman M.T., Stellick C.E., Pelkey J.P., Scott J.M., Cole C.A.; Monitoring cider aroma development throughout the fermentation process by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Beverages*, 2020, 6(2), #40.
- [2] Capece A., Romaniello R., Pietrafesa A., Siesto G., Pietrafesa R., Zambuto M., Romano P.: Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added. *Int. J. Food Microbiol.*, 2018, 284, 22-30.
- [3] Coelho R.M.D., De Almeida A.L., Do Amaral R.Q.G., Da Mota R.N., De Sousa P.H.M.: Kombucha. *Int. J. Gastron. Food Sci.*, 2020, 22, #100272.
- [4] Da Silva M.M., De Souza A.C., Faria E.R., Molina G., De Andrade Neves N., Morais H.A., Ramos C.L.: Use of kombucha SCOBY and commercial yeast as inoculum for the elaboration of novel beer. *Fermentation*, 2022, 8(12), #748.
- [5] Datta S., Timson D.J., Annapure U.S.: Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii*. *J. Sci. Food Agricul.*, 2017, 97(9), 3039-3049.
- [6] Coelho M.A.Z.: Growth parameters and survivability of *Saccharomyces bouardii* for probiotic alcoholic beverages development. *Front. Microbiol.*, 2019, 10, #2092.
- [7] De Paula B.P., De Souza Lago H., Firmino L., Júnior W.J.F.L., Corrêa M.F.D., Guerra A.F., Coelho M.A.Z.: Technological features of *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* for potential probiotic wheat beer development. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2021, 135, #110233.
- [8] Dos Santos D.C., Da Oliveira Filho J.G., Andretta J.R., Silva F.G., Egea M.B.: Challenges in maintaining the probiotic potential in alcoholic beverage development. *Food Biosci.*, 2023, #102485.
- [9] García-Guzmán J.J., López-Iglesias D., Cubillana-Aguilera L., Lete C., Lupu S., Palacios-Santander J.M., Bellido-Milla D. Assessment of the polyphenol indices and antioxidant capacity for beers and wines using a tyrosinase-based biosensor prepared by sinusoidal current method. *Sensors*, 2018, 19(1), #66.
- [10] Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B., Sanders M.E.: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, 11(8), 506-514.
- [11] Jayabalan R., Malbaša R.V., Lončar E.S., Vitas J.S., Sathishkumar M.: A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2014, 13(4), 538-550.

- [12] Jose-Coutinho A., Avila P., Ricardo-Da-Silva J.M.: Sensory profile of Portuguese white wines using long-term memory: A novel nationwide approach. *J. Sensory Stud.*, 2015, 30(5), 381-394.
- [13] Jung J.H., Kim S.J., Lee J.Y., Yoon S.R., You S.Y., Kim S.H.: Multifunctional properties of *Lactobacillus plantarum* strains WiKim83 and WiKim87 as a starter culture for fermented food. *Food Sci. Nutr.*, 2019, 7(8), 2505-2516.
- [14] Liu F.: Changes in organic acids during beer fermentation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2015, 73(3), 275-279.
- [15] De Paula B.P., Chávez D.W.H., Lemos Junior W.J.F., Guerra A.F., Corrêa M.F.D., Pereira K.S.: Growth parameters and survivability of *Saccharomyces boulardii* for probiotic alcoholic beverages development. *Front. Microbiol.*, 2019, 10, #2092.
- [16] Lobo R.O., Dias F.O., Shenoy C.K.: Kombucha for healthy living: evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *Int. Food Res. J.*, 2017, 24(2), 541-546.
- [17] Medina-Pradas E., Pérez-Díaz I.M., Garrido-Fernández A., Arroyo-López F.N.: Review of vegetable fermentations with particular emphasis on processing modifications, microbial ecology, and spoilage. In *The microbiological quality of food*, Woodhead Publishing, 2017, pp. 211-236.
- [18] Mulero-Cerezo J., Briz-Redón Á., Serrano-Aroca Á.: *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*: Valuable probiotic starter for craft beer production. *Applied Sciences*, 2019, 9(16), #3250.
- [19] Müller M., Bellut K., Tippmann J., Becker T.: Physical methods for dealcoholization of beverage matrices and their impact on quality attributes. *ChemBioEng Rev.*, 2017, 4(5), 310-326.
- [20] Nardini M., Foddai M.S. Phenolics profile and antioxidant activity of special beers. *Molecules*, 25(11), 2466, #2020.
- [21] Neffe-Skocińska K., Kruk M., Ścibisz I., Zielińska D.: The novel strain of *Gluconobacter oxydans* H32 isolated from Kombucha as a proposition of a starter culture for sour ale craft beer production. *Appl. Sci.*, 2022, 12(6), #3047.
- [22] Neffe-Skocińska K., Sionek B., Ścibisz I., Kołożyn-Krajewska D. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Cyta-J. Food*, 2017, 15(4), 601-607.
- [23] Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E.: *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiol.*, 2020, 6(1), #1.
- [24] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, 26(9-10), 1231-1237.
- [25] Scheiblaue J., Scheiner S., Joksch M., Kavsek B.: Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*—Combining kinetic modeling and optimization techniques points out avenues to effective process design. *J. Theor. Biol.*, 2018, 453, 125-135.
- [26] Selvaraj S., Gurumurthy K.: An overview of probiotic health booster-kombucha tea. *Chin. Herb. Med.*, 2022, 15(1), 27-32.
- [27] Stachowiak B., Bukowski K.: New trends in the brewing industry. Functional beers - raw materials and technological aspects of their production. *Food. Science. Technology. Quality*, 2021, 28(1), 5-27.
- [28] Śmiechowska M., Jakubowski M., Dmowski P.: New trends on the market of low-alcohol fermented beverages. *Cosmos*, 2018, 67(3), 575-582.
- [29] Tallei T.E., Niode N.J., Idroes R., Zidan B.M., Mitra S., Celik I., Capasso R.: A comprehensive review of the potential use of green tea polyphenols in the management of COVID-19. *Evid. Based Complementary Altern. Med.*, 2021, 3, #7170736.

- [30] Watawana M.I., Jayawardena N., Gunawardhana C.B., Waisundara V.Y.: Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *J. Chemi.*, 2015, #591869.
- [31] Zielińska D., Baca E., Baranowski K., Salamon, A. The influence of the *Kluyveromyces* yeast strain and extract in honey worts on the content of ethanol and specific fermentation products. *Progr. Sci. Technol. Agricul. Food Ind.*, 2012, 67(4), 16-30.

PRZYDATNOŚĆ FERMENTOWANEJ HERBATY KOMBUCHA DO PRODUKCJI NAPOJÓW NISKOALKOHOLOWYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Wzrastające zainteresowanie konsumentów żywnością fermentowaną oraz chęć poprawy swojego zdrowia i samopoczucia, przyczynia się do rozwoju rynku napojów funkcjonalnych, które są bogate w związki biologicznie czynne, wpływające pozytywnie na organizm człowieka. Jednym z takich napojów jest azjatycka fermentowana herbata Kombucha, doceniana ze względu na walory smakowe oraz korzystne właściwości prozdrowotne. Celem pracy był dobór odpowiedniej kultury startowej drożdży do produkcji fermentowanych napojów niskoalkoholowych na bazie Kombuchy o dobrej jakości mikrobiologicznej, sensorycznej oraz wysokiej aktywności antyoksydacyjnej. Zakres badań obejmował opracowanie procesu technologicznego napoju herbacianego Kombucha z dodatkiem drożdży winiarskich, piwowarskich i probiotycznych, a następnie określenie jakości zaprojektowanych fermentowanych napojów niskoalkoholowych. Metodyka badawcza obejmowała analizę kwasowości czynnej i zawartości alkoholu, analizę mikrobiologiczną, aktywność antyoksydacyjną i zawartość polifenoli ogółem oraz analizę sensoryczną.

Wyniki i wnioski. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że otrzymywanie niskoalkoholowych napojów fermentowanych na bazie Kombuchy jest możliwe, a jakość tych produktów uzależniona była od kultur startowych drożdży, które wpłynęły istotnie na wartości pH, zawartość alkoholu, potencjał antyoksydacyjny i zawartość polifenoli ogółem oraz profil sensoryczny produktu finalnego. Otrzymane napoje niskoalkoholowe cechowały się wysoką zawartością związków antyoksydacyjnych oraz pożądaną jakością mikrobiologiczną i sensoryczną. Uzyskane wyniki stanowią pilotaż do dalszych badań nad przydatnością fermentowanej herbaty Kombucha do produkcji napojów niskoalkoholowych.

Słowa kluczowe: Kombucha, kultury startowe drożdży, niskoalkoholowe napoje fermentowane, aktywność antyoksydacyjna, polifenole ☒

MACIEJ JARZĘBSKI, SHALOME NIYOBUHUNGIRO, WOJCIECH SMULEK,
GRZEGORZ FIUTAK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK, MAREK SADY

ANALIZA UKŁADÓW EMULSYJNYCH Z OLEJEM Z KONOPI JAKO SUPLEMENTÓW WITAMINY K

Streszczenie

Wprowadzenie. Witamina K odgrywa ważną rolę w procesie krzepnięcia krwi, poprawy stanu kości, zmniejszaniu zwapnień naczyń i ryzyka sercowo-naczyniowego oraz wykazuje właściwości przeciwpalne. Słaba rozpuszczalność witaminy K w wodzie stanowić może ograniczenie we wprowadzeniu jej do żywności specjalnego przeznaczenia. Rodzi to konieczność opracowywania innowacyjnych postaci suplementów diety zawierających witaminę K, które będą oparte na układach emulsyjnych. Emulsje, których krople fazy rozproszonej mają rozmiar submikronowy, wykazują większą stabilność w porównaniu z emulsjami makroskopowymi. Kolejnym wyzwaniem w technologii żywności jest poszukiwanie alternatyw dla sztucznych surfaktantów. Alternatywą mogą być preparaty roślinne zawierające w swojej strukturze saponiny, takie jak zastosowany w niniejszej pracy ekstrakt z orzechów piorących.

Wyniki i wnioski. W badaniach skupiono się na 3 optymalnych składach emulsji bazujących na oleju z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.), stabilizowanych ekstraktem z orzecha piorącego w ilości 0,025, 0,250 i 0,500 cm³ na 25 cm³ całej kompozycji. Jako składnik prozdrowotny zastosowano witaminę K w ilości 0,2 mg. Po wytworzeniu przebadano układy w kontekście rozmiarów cząstek/kropeł techniką dynamicznego rozpraszania światła oraz oceniono ich homogeniczność przy użyciu mikroskopu optycznego. Przy użyciu reometru rotacyjnego wyznaczono lepkość dynamiczną emulsji. Przeprowadzono również analizy spektrofotometryczne FTIR z ATR oraz analizę koloru i pH emulsji. Wszystkie trzy badane emulsje wykazały się dużym stopniem stabilności po upływie miesiąca. Emulsje na bazie oleju z konopi, których rozmiar kropeł jest poniżej 1 mikrometra mogą stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych nośników witamin. Natomiast ekstrakt z orzechów piorących może stać się skutecznym stabilizatorem/surfaktantem stosowanym w technologii żywności.

Słowa kluczowe: nanoemulsja, olej z konopi, witamina K, stabilność, orzechy piorące

Dr hab. inż. M. Jarzębski ORCID: 0000-0001-9832-9274, *Katedra Fizyki i Biofizyki, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-637 Poznań*; *mgr S. Niyobuhungiro, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań*; *dr inż. W. Smulek* ORCID: 0000-0001-5377-9933, *Zakład Chemii Organicznej Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, Berdychowo 4, 60-965 Poznań*; *dr inż. G. Fiutak* ORCID: 0000-0001-7781-7922, *Katedra Biotechnologii i Ogólnej Technologii Żywności*; *dr inż. M. Filipczak-Fiutak* ORCID: 0000-0001-5355-8022; *dr hab. inż. Marek Sady* ORCID: 0000-0002-2702-1181, *Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: e-mail: maciej.jarzepski@up.poznan.pl*

Wprowadzenie

System emulsji stabilizowany naturalnymi środkami powierzchniowo czynnymi to innowacyjne podejście do rosnącego zapotrzebowania na naturalne produkty spożywcze. W związku z tym opracowanie nowych kompozycji emulsyjnych może stanowić odpowiedź świata nauki na zwiększony popyt na tego rodzaju produkty [1]. Dzięki zastosowaniu układów emulsyjnych z olejów konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) i witaminy K możliwe będzie połączenie i wykorzystanie ich cennych właściwości.

Nasiona konopi charakteryzują się wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych i białek, przy czym jako produkt roślinny nie zawierają cholesterolu. Dlatego cieszą się coraz większym zainteresowaniem jako produkty o charakterze potencjalnie prozdrowotnym. Jednym z produktów spożywczych pozyskiwanych z nasion konopi siewnej jest olej (HSO), będący doskonałym źródłem tłuszczu w diecie człowieka. Zawiera on m.in. tetrahydrokanabinol i wiele związków fenolowych o cechach przeciwutleniających. Ze względu na korzystne właściwości olej z nasion konopi traktowany jest jak potencjalny składnik żywności funkcjonalnej, a także wspomagający w leczeniu wielu chorób. Tłoczony na zimno olej z nasion konopi zawiera większe stężenia tokoferoli, flawonoidów i fenoli w porównaniu do tłoczonego na zimno oleju lnianego czy rzepakowego [2]. Ponadto w stosunku do olejów: sojowego, słonecznikowego, kukurydzianego oraz z pestek winogron charakteryzuje go silniejsze działanie wychwytyjące rodniki DPPH [3]. Olej z nasion konopi jest bogaty w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe [2]. Jest szczególnie bogatym źródłem kwasu linolowego (18:2, omega-6, około 57 %) i kwasu α -linolenowego (18:3, omega-3, około 19 %), a ponadto stosunek kwasów tłuszczowych n-6 do n-3 w oleju z nasion konopi wynoszący 3:1 sprawia, że jego regularne spożywanie prowadzi do wielu korzyści zdrowotnych [4-6]. Prozdrowotne właściwości oleju z nasion konopi wynikają także z zawartości egzogennych aminokwasów [7], a także istotny jest brak fitynianów, które mogą hamować wchłanianie niezbędnych minerałów, takich jak wapń, żelazo, mangan i cynk. Olej z nasion konopi może stanowić odpowiedni składnik mieszanin emulsyjnych, gdyż oprócz licznych zalet odżywczych stwierdzono jego lepszą zdolność do emulgacji w wodzie w porównaniu do innych olejów roślinnych [8].

Z kolei orzechy piorące (*Sapindus mukorossi*) to naturalne źródło środków powierzchniowo czynnych, które można stosować jako alternatywę dla syntetycznych związków tego typu powszechnie wykorzystywanych w emulsjach. Zewnętrzna otoczka tych orzechów zawiera saponiny [9], które charakteryzuje zdolność obniżania napięcia powierzchniowego wody i oleju oraz właściwości emulgujące. Orzechy piorące są również biodegradowalne i nietoksyczne, co czyni je przyjazną dla środowiska alternatywą dla syntetycznych środków powierzchniowo czynnych. Oprócz właściwości emulgujących saponiny z orzechów piorących mają również działanie antybakteryjne

i hipoalergiczne, dzięki czemu są popularnym składnikiem naturalnych i organicznych produktów do higieny osobistej. W związku z powyższym orzechy piorące mogą mieć zastosowanie jako emulgatory w żywności [10].

Emulgatory mają kluczowe znaczenie dla skutecznego tworzenia kropelek lipidów podczas homogenizacji, jak również w istotny sposób poprawiają stabilność emulsji. Zapobiegają rozdzielaniu faz poprzez kontrolowanie skupienia kuleczek, co sprzyja stabilności układów heterogenicznych i może prowadzić do wydłużenia okresu przydatności produktu do spożycia. W odpowiedzi na rosnące zapotrzebowanie na minimalnie przetworzoną żywność badacze działający w obrębie branży spożywczej szukają naturalnej alternatywy dla składników syntetycznych stosowanych obecnie w recepturach wielu produktów. Dzięki zastosowaniu emulsji możliwe jest lepsze połączenie oleju z konopi siewnej np. z witaminą K, dzięki czemu można wykorzystać prozdrowotne właściwości zarówno oleju jak i witaminy K.

Wśród licznych badań naukowych dotyczących oddziaływania witamin na organizm człowieka ważne miejsce zajmują doniesienia o potencjalnych korzyściach zdrowotnych wynikających z zażywania witaminy K. Dowodzą one, że poza regulacją krzepliwości krwi witamina ta wpływa pozytywnie na stan kości [11] oraz zmniejsza zwapnienie naczyń oraz ogranicza ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego [12,13]. Witamina K jest witaminą rozpuszczalną w tłuszczach, występującą w dwóch formach: K1 (filochinon), główna postać obecna w roślinach oraz K2 (menachinon), która jest syntetyzowana przez bakterie. Naturalnym źródłem witaminy K1 są zielone warzywa liściaste, oliwa z oliwek i olej sojowy [14], a witaminy K2 – produkty mleczne, takie jak sery i masło a także jaja oraz fermentowana soja (natto) [15]. Witamina K1 i witamina K2 są niezbędne do karboksylacji γ -glutamylu wszystkich białek zależnych od witaminy K. Chociaż mikrobiota jelitowa ssaków zdolna jest do produkcji witaminy K2, uważa się, że wytwarzana ilość jest znikoma [16]. Zalecane spożycie witaminy K waha się od 55 do 90 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ w przypadku kobiet i 65 ÷ 120 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ w przypadku mężczyzn [12], jednak DiNicolantonio i wsp. [17] podają, że nawet ilość 120 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ może nie być wystarczająca do wywołania całkowitej karboksylacji wszystkich białek zależnych od witaminy K. W związku z powyższym istotne jest poszukiwanie źródeł i metod suplementacji diety witaminą K. Postanowiono zatem zbadać właściwości układów emulsyjnych wzbogaconych w witaminę K, wytworzonych z użyciem oleju z nasion konopi oraz środków powierzchniowo czynnych pochodzących z orzechów piorących

Material i metody

Material

Witaminę K w postaci stałej zakupiono od firmy P.P.H. "STANLAB" Sp. z o.o. (Polska). Olej z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) firmy „So Well” kupiono w lokalnym sklepie w Poznaniu. Orzechy piorące, stanowiące czynnik stabilizujący układ emulsyjny zakupiono z firmy Mohani (Psary, Polska). Roztwór wodny ekstraktu z orzechów piorących o stężeniu 10 g/dm³ (surfaktant) przygotowano zgodnie z metodą opracowaną przez Smułka i wsp. [18].

Tabela 1. Kompozycja wytworzonych układów emulsyjnych

Table 1. Composition of the prepared emulsion systems

Nazwa układu / Name of the system	Olej z konopi / Hemp oil (HSO) [ml]	Surfaktant (OP) / Surfactant (OP) [ml]	Woda / Water [ml]	Witamina K / Vitamin K [mg]
HSK7	0,250	0,025	24,725	0,200
HSK2	0,250	0,250	24,500	0,200
HSK4	0,250	0,500	24,250	0,200

Przygotowanie układów emulsyjnych

Układy emulsyjne przygotowano w procesie dwustopniowej homogenizacji. Procedurę przygotowania oparto na poprzednich wynikach badań przedstawionych przez Pratapa-Singha i wsp. [19], a szczegółowo opisaną przez Niyobuhungiro [20]. W tabeli 1 zestawiono kompozycję układów emulsyjnych.

Metody badawcze

Wizualna ocen stabilności układów emulsyjnych

Ocenę stabilności emulsji przeprowadzono w teście obserwacji wizualnej, gdzie przez tydzień obserwowano zachodzenie zjawiska separacji faz. Dodatkowo przeprowadzono analizę mikroskopową wytworzonych układów emulsyjnych. W tym celu wykorzystano odwrócony mikroskop świetlny ZEISS Axio Vert.A1 (Zeiss, Shanghai, Chiny), wyposażony w kolorową kamerę rejestrującą Axiocam 208 (Zeiss, Chiny). Obrazowanie wykonano przy użyciu obiektywów powietrznych o powiększeniu 20×, 40×. Badane układy emulsyjne umieszczono w kuwetach pomiarowych μ -Slide VI 0.4 cuvette (Ibidi GmbH, Gräfelfing, Niemcy) i po umieszczeniu na stoliku mikroskopowym odczekano aż nastąpi silna redukcja prędkości przepływu płynu w mikrokanale. Uzyskane obrazy analizowano przy użyciu oprogramowania ZEN3.1 blue edition (Zeiss, Jena, Niemcy).

Wyznaczanie rozmiaru cząstek

Do wyznaczania rozmiaru cząstek/kropki emulsji wykorzystano technikę dynamicznego rozpraszania światła - DLS (z ang. *dynamic light scattering*). Badania przeprowadzono przy użyciu urządzenia Zetasizer Pro (Malvern Panalytical) wraz z dedykowanym oprogramowaniem analizującym ZS XPLORER 1.0. Zaznaczyć należy, że badania przeprowadzono bez dodatkowych rozcieńczeń w celu oceny zachowania układu emulsyjnego [10]. Funkcje autokorelacji rejestrowano w trybie rozpraszania wstecznego przy kącie 173° . Układy emulsyjne przed badaniem były stabilizowane w temperaturze 25°C przez 5 min. w komorze pomiarowej. Pomiary wykonano wykorzystując ustawienie automatyczne programu, dedykowane dla standardów lateksowych. Rejestrację sygnałów wykonano w minimum 10 powtórzeniach, a zaprezentowano przykładowe wyniki odzwierciedlające wartości średnie z pomiarów.

Spektrofotometria FTIR

Widma w zakresie podczerwieni rejestrowano przy użyciu spektrofotometru FTIR wyposażonym w przystawkę ATR (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Widma próbek były zbierane w zakresie $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$.

Badania reologiczne

Lepkość układów emulsyjnych wyznaczono przy użyciu wiskozymetru rotacyjnego ViscoQC 300 (Anton Paar GmbH, Graz, Austria). Do badań wykorzystano dedykowane naczynie pomiarowe tzw. "double gap" DG26 oraz wrzeczono B-DG 26. Badania prowadzono w trybie skanowania prędkości obrotowej w zakresie od 2 do 250 obr./min. Analizy prowadzono w temperaturze otoczenia (23°C).

Pomiar pH

Do pomiarów pH wykorzystano pH-metr przenośny S2-Food-Kit Seven2Go pH (Mettler Toledo, Szwajcaria) wyposażony w sondę pomiarową InLab Solids Go-ISM. W pracy przedstawiono uśrednione wyniki z 5 pomiarów.

Analiza barwy

Do wyznaczania koloru próbek emulsji użyto kolorymetru NH310 (Shenzhen ThreeNH Technology Co., Ltd., Shiyan, Chiny) wyposażonego w zintegrowane dedykowane oprogramowanie. Pomiary wykonano poprzez umieszczenie ok. 2 ml cieczy w kuwecie polistyrenowej, którą zamknięto w zaciemnionej komorze pomiarowej. Wykonano 10 powtórzeń dla każdej z próbek. Następnie obliczono indeks WI

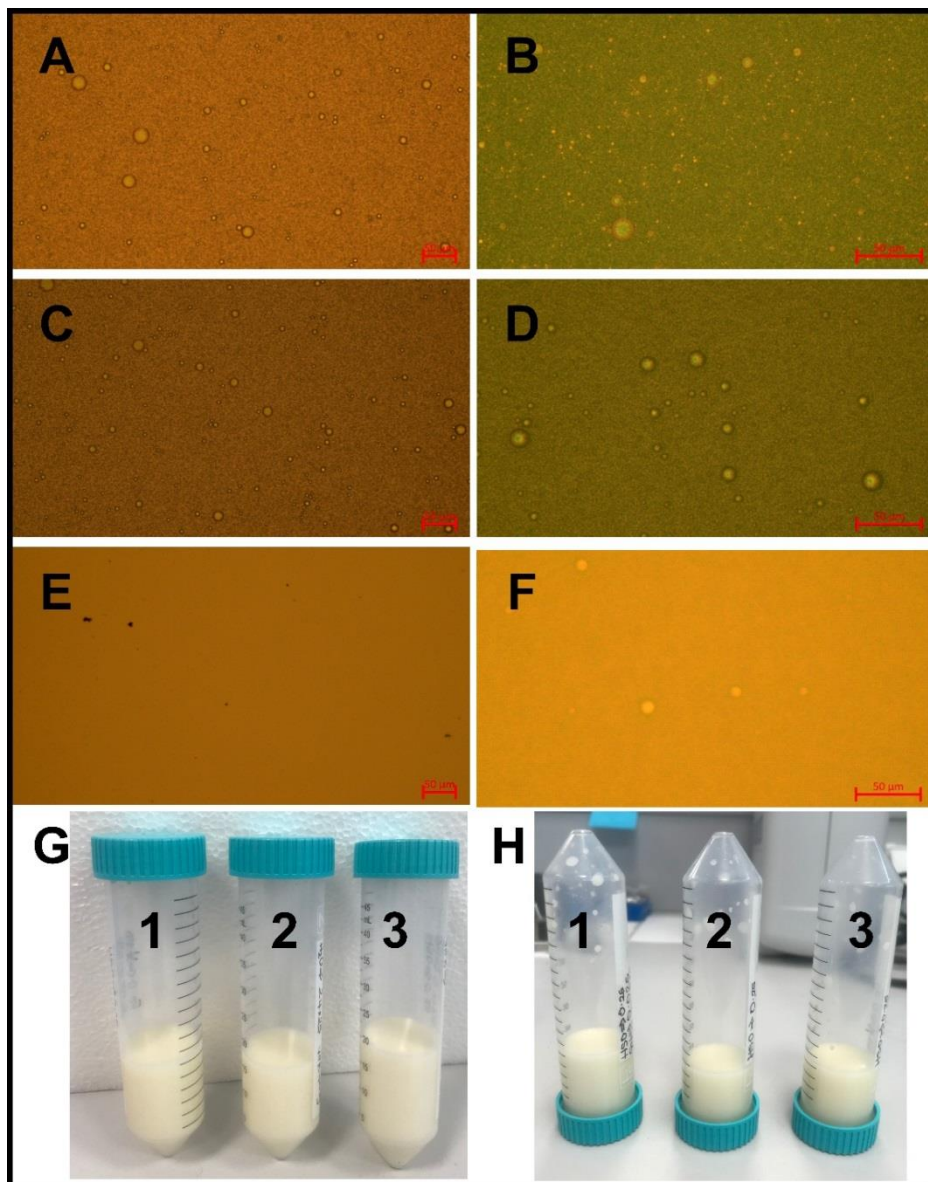
Analiza statystyczna

Wszystkie pomiary powtórzone minimum trzykrotnie, o ile w opisanej metodyce nie wskazano inaczej. Do opracowania statystycznego wykorzystano ANOVA, poziom P, test istotności różnic między średnimi oraz program Excel 2019, a także dedykowane oprogramowanie producentów wykorzystanych urządzeń pomiarowych.

Wyniki badań i dyskusja

Ocena stabilności układów emulsyjnych

Rozmiar kropli fazy rozproszonej w dyspersjach i układach emulsyjnych jest jednym z krytycznych elementów wpływających na ich stabilność. Zmniejszenie rozmiaru kropli do tzw. mikroemulsji czy nanoemulsji korzystnie wpływa na ich stabilność [21]. Brak rozwarstwienia fazy olejowej i wodnej oraz homogeniczność układu jest też jednym z czynników decydujących o wyborze danego produktu spożywczego. Badania, które przeprowadzili Pratap-Singh i wsp. [19] oraz Fathordoobady i wsp. [22] na układach bazujących na oleju z nasion z konopi wykazały, że odpowiednia długość procesu homogenizacji przeprowadzonego dwustopniowo wpływa istotnie na stabilność emulsji oraz umożliwia znaczne zredukowanie rozmiaru kropli fazy rozproszonej. Bazując na ich badaniach oraz wynikach przedstawionych przez Smułka i Jarzębskiego [10] zdecydowano się na wykorzystanie optymalnych kompozycji emulsji wyznaczonych przy użyciu zmodyfikowanej metody projektowania eksperymentu Boxa–Behnkena, gdzie fazą rozproszoną był olej z konopi stabilizowany ekstraktem z orzechów piorących do zaimplementowania jako potencjalnych nośników witaminy K. Jak przedstawiono w tabeli 1, wybrano trzy kompozycje różniące się zawartością surfaktantu celem weryfikacji ich stabilności przy dodatku witaminy K. Na rys. 1 przedstawiono obraz mikroskopowy wytworzonych emulsji. W przypadku układów z zawartością 0,250 i 0,500 cm³ surfaktantu, stwierdzono brak zauważalnych różnic w morfologii emulsji. Natomiast w przypadku bardzo niskiej zawartości ekstraktu z orzechów piorących (Rys.1 E i F) widać jedynie niewielkie aglomeraty przy powiększeniu 20-krotnym (małe czarne punkty widoczne na rys. 1E). Pozostała część fazy rozproszonej przy tym powiększeniu jest ciągła. Przy powiększeniu x40 widać wyraźniej krople emulsji (rys. 1F). Z kolei na rys. 1G przedstawiono wygląd emulsji po wytworzeniu. Wszystkie próbki są homogeniczne i mętne. Rys. 1H obrazuje emulsje po 1 miesiącu przechowywania. Tu również zauważyć można brak wydzielenia fazy niewodnej, świadczący o stabilności układu. Po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze 4 - 8°C obserwowano powstawanie czarnego osadu, który po upływie kolejnych miesięcy wyraźnie wskazywał na namnożenie się w emulsjach drobnoustrojów (na tym etapie nie przeprowadzono szczegółowych badań identyfikujących rodzaj drobnoustrojów). Podobny efekt obserwowano wcześniej w układach z białkiem grochu [23]. Podkreślić



Rys. 1. Fotografie emulsji wykonane mikroskopem optycznym: emulsja HSK2 w powiększeniu x 20 (A), x40 (B); emulsja HSK4 w powiększeniu x20 (C), x40 (D); emulsja HSK7 w powiększeniu x20 (E), x40 (F). Zdjęcia emulsji 1 – HSK2, 2 – HSK4, 3 – HSK7 po wytworzeniu (G) i po miesiącu przechowywania (H) w temperaturze 4-8°C

Fig. 1. Optical microscopy images of the emulsions: HSK2 magnification x 20 (A), x40 (B); HSK4 magnification x20 (C), x40 (D); HSK7 magnification x20 (E), x40 (F). Images of the emulsions 1 – HSK2, 2 – HSK4, 3 – HSK7 directly after preparation (G) after 1 month storage (H) at 4-8°C

należy, że do kompozycji nie wprowadzono żadnych dodatkowych środków konserwujących przeznaczonych do produktów spożywczych czy też często używanego w badaniach emulsji azydku sodu. Badania mikroskopowe i obserwacje wizualne potwierdziły, że nawet niewielki udział dodatku ekstraktu z orzechów piorących w ilości $0,025 \text{ cm}^3$ (przy objętości całej próbki 25 cm^3) korzystnie wpływa na stabilność opracowanych kompozycji emulsji. Brak rozwarstwienia i duża homogeniczność badanych emulsji, stanowiły przesłankę do bardziej szczegółowej analizy rozmiaru ich kropeł/cząstek. Celowe jest tu użycie wyrażenia „cząstek” z uwagi na możliwość wystąpienia zawiesiny nierozpuszczonej witaminy K. Jednakże badania wizualne nie potwierdziły występowania wyraźnej frakcji substancji nierozpuszczonych.

W tabeli 2 zestawiono parametry badanych układów emulsyjnych wyznaczone za pomocą techniki dynamicznego rozpraszania światła. Parametr z-ave (wyznaczany na podstawie otrzymanych krzywych autokorelacji metodą Cumulant), który dość często jest poddawany dyskusji w kontekście porównania wielkości cząstek wyznaczonych techniką DLS dla wszystkich 3 badanych układów był bardzo zbliżony i jego wartość wyniosła między 480 a 492 nm. Dopiero szczegółowa analiza rozkładów wielkości cząstek (względem intensywności oraz względem liczności cząstek) wykazała, że najmniejsze cząstki zarejestrowano dla układu zawierającego $0,250 \text{ cm}^3$ surfaktantu. Zwiększenie stężenia orzechów piorących do $0,500 \text{ cm}^3$ skutkowało zwiększeniem rozmiaru cząstek do ok. 529 nm (780 nm względem intensywności). Natomiast interesujące wyniki uzyskano dla zawartości stabilizatora w ilości $0,025 \text{ cm}^3$, gdzie rozmiar cząstek względem liczności wyniósł 657 nm. Ten układ charakteryzował się również

Tabela 2. Zestawienie parametrów uzyskanych w pomiarach techniką DLS: z-ave (nm), indeks polidispersyjności (PDI), Średnie maksimum piku rozkładu wielkości cząstek względem intensywności (nm), Średnie maksimum piku rozkładu wielkości cząstek względem ich liczby (nm)

Table 2. DLS measurement results: z-ave (nm), polydispersity index (PDI), mean particle size distribution by intensity (nm), mean particle size distribution by number (nm)

Nazwa układu / Name of the system	Z-ave / Z-ave (nm)	Indeks polidispersyjności / Polydispersity index (PDI)	Maksimum piku rozkładu wielkości cząstek względem intensywności / The average maximum peak of the particle size distribution versus intensity (nm)	Maksimum piku rozkładu wielkości cząstek względem ich liczby / The average maximum peak of the particle size distribution relative to particle number (nm)
HSK2	$480^a \pm 7$	$0.348^a \pm 0.055$	$709^a \pm 68$	$372^a \pm 194$
HSK4	$478^a \pm 14$	$0.390^a \pm 0.043$	$780^a \pm 16$	$529^a \pm 39$
HSK7	$492^a \pm 4$	$0.500^b \pm 0.005$	$905^b \pm 28$	$657^a \pm 58$

Objaśnienia / Explanatory notes:

^{a, b} – wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie statystycznie istotnie / ^{a, b} – values marked with different letters in columns differ statistically significantly

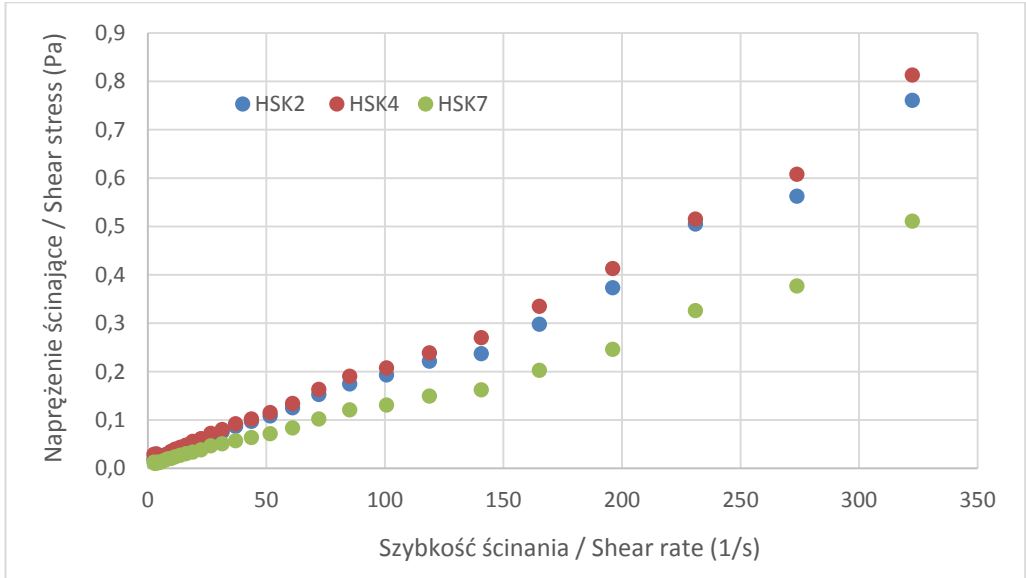
największym współczynnikiem polidispersyjności (PDI) wynoszącym 0,5. Otrzymane wyniki wskazują, że nie jest w pełni uzasadnione zwiększanie stężenia stabilizatora i bardziej właściwe jest poszukiwanie optymalnej kompozycji, wykorzystujące np. metody randomizowane (tak jak w tym przypadku, bazując na wcześniejszych doniesieniach literaturowych i badaniach własnych).

Właściwości reologiczne emulsji

Jednym z wyzwań w technologii żywności jest opracowanie kompozycji umożliwiających przyjmowanie pokarmów i substancji odżywczych przez osoby wymagające żywienia specjalistycznego. Posiłek w postaci substancji stałej bardzo często jest trudno przyswajalny przez osoby cierpiące zarówno na przewlekłe choroby układu pokarmowego, jak i przykładowo pacjentów po różnych zabiegach inwazyjnych (chirurgicznych). Szczególnie istotne jest w tych przypadkach suplementowanie witaminą K, która wykazuje właściwości przeciwzapalne [24]. Znaczna część dostępnych suplementów diety zawierających witaminy ma postać kapsułek, głównie żelatynowych. Z kolei witaminy z rodziny K rozpuszczają się głównie w tłuszczach, co znacząco utrudnia kompozycję suplementu diety i jego atrakcyjność sensoryczną. Alternatywą może być zaproponowany układ emulsyjny, stąd też przeprowadzono badania właściwości reologicznych przygotowanych emulsji. Zależność ich naprężenia ścinającego od szybkości ścinania prezentuje rys. 2. Analizowane układy przy wartościach szybkości ścinania poniżej 140 1/s zachowywały się jak płyn nienewtonowski rozrzedzany ścinaniem, jednak przy wyższych szybkościach ścinania emulsje zaczynały wykazywać cechy płynu zagęszczanego ścinaniem. Zmiany te są jeszcze bardziej uwypuklone wynikami przedstawionymi na rys. 3, gdzie pokazano zależności lepkości dynamicznej od szybkości ścinania. Warto podkreślić, że wzrost stężenia surfaktantu wpływał na zwiększenie lepkości dynamicznej, co można także powiązać ze zmniejszeniem rozmiaru kropeł emulsji, podobne zjawisko zaobserwował Barnes [25]. Jednocześnie stężenie surfaktantu nie miało wpływu na wartość szybkości ścinania, przy której obserwowano zmianę właściwości płynu nienewtonowskiego. Może to wskazywać, że jest to parametr zależny od stężenia fazy rozproszonej [26] i interakcji zachodzących między jej kroplami, jak np. koalescencji [27]. Aczkolwiek Pal [28] wykazał, że zależność lepkości dynamicznej od udziału objętościowego fazy rozproszonej nie musi być zależnością liniową.

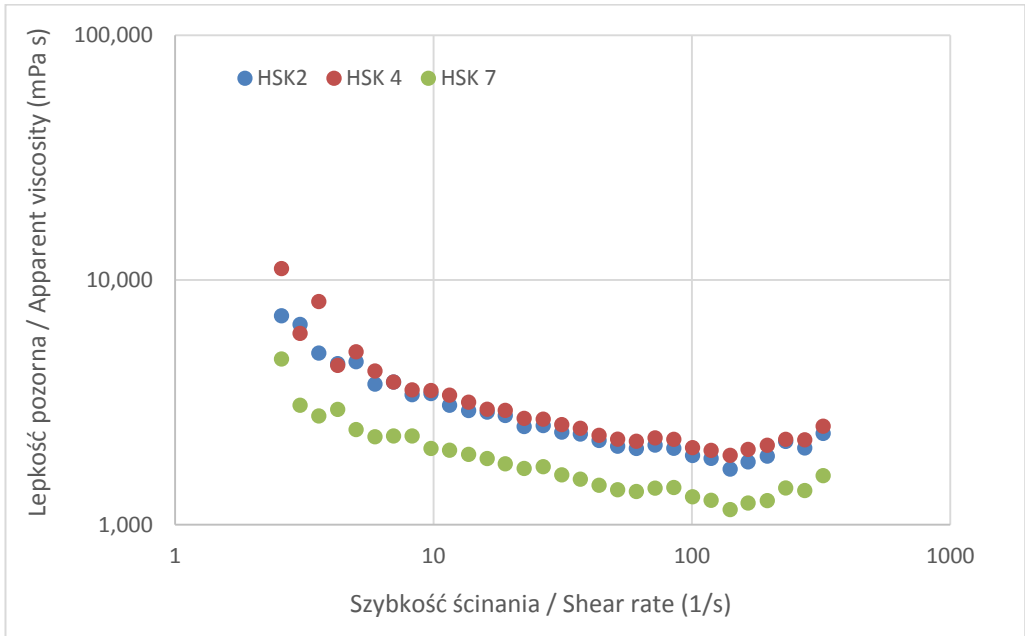
Analizy spektrofotometryczne układów emulsyjnych

Dla układów emulsyjnych zawierających witaminę K wykonano także widma w podczerwieni, które zaprezentowano na rys. 4. W przypadku oleju z nasion konopi widoczne są wyraźnie sygnały drgań rozciągających wiązań C-H ($2800-3050\text{ cm}^{-1}$).



Rys. 2. Wykres zależności zmiany naprężenia ścinającego względem szybkości ścinania

Fig. 2. Representative curves of shear stress vs. shear rate relation

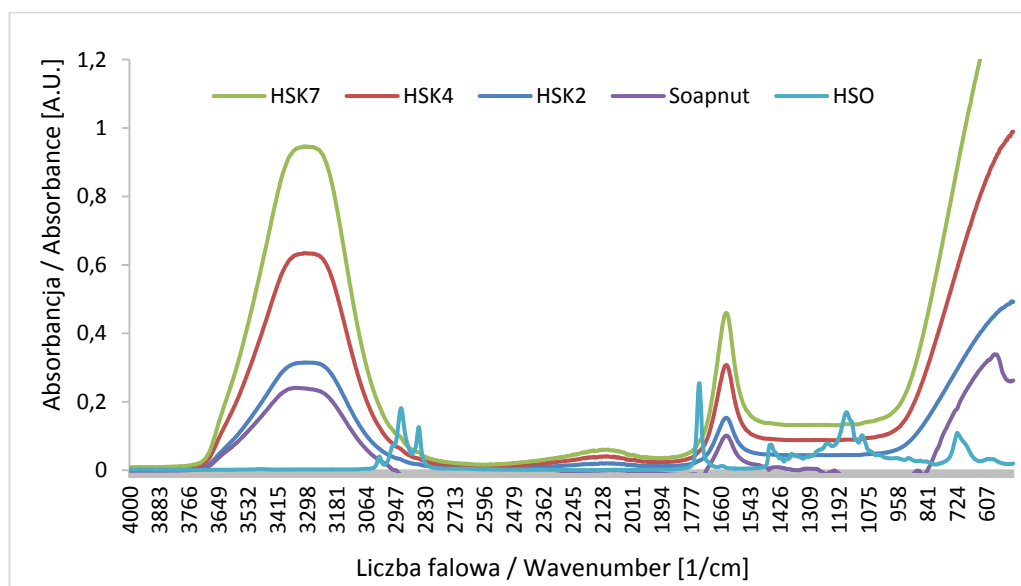


Rys. 3. Wykres zależności zmiany lepkości dynamicznej względem szybkości ścinania

Fig. 3. Representative curves of dynamic viscosity vs. shear rate relation

Wysoka względna intensywność pasma 1745 cm^{-1} (charakterystycznego dla grupy karbonylowej w sąsiedztwie wiązań nienasyconych) potwierdza bardzo wysoką zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych [8,29]. Podobne sygnały są widoczne w widmie surfaktantu roślinnego. Odpowiada on również grupom $\text{C}=\text{O}$, ale jest obecny w innych typach cząsteczek, takich jak steroidy, które są składnikami saponin. Z kolei emulsje zawierają przede wszystkim sygnały od grup $\text{O}-\text{H}$ cząsteczek wody, a brak jest widocznych sygnałów od surfaktantu roślinnego oraz od oleju konopnego.

Dodatkowych informacji dostarcza analiza barwy w przestrzeni barw $L^*a^*b^*$ (Tabela 3). Wraz ze wzrostem zawartości surfaktantu roślinnego próbki emulsji stają się ciemniejsze (maleje wartość parametru L^*), a odcień zostaje przesunięty w kierunku żółto-zielonego (malejące a^* i rosnące b^*), przy czym zmiany te mają charakter statystycznie istotny. Różnice te wynikają ze zmiany stężenia surfaktantu, choć należy je wiązać z większym rozpraszaniem i pochłanianiem światła przez próbki, a nie barwą samego surfaktantu. Jak zauważyli Kowalska i wsp. [30], zmiany koloru w układach emulsyjnych wynikają ze zmian wielkości kropeł w czasie przechowywania, w szczególności parametr L^* rośnie wraz ze zwiększaniem stężenia kropeł i zmniejszaniem się ich rozmiarów.



Rys. 4. Widma FTIR układów emulsyjnych HSK2, HSK4, HSK7 oraz oleju z konopi (HSO) i roztworu wodnego ekstraktu z orzechów piorących (oznaczone jako „Soapnut”)

Fig. 4. FTIR spectra of HSK2, HSK4, HSK7 emulsions, hemp seed (HSO) oil and soapnuts water solution

Tabela 3. Wyniki analizy koloru w skali L*a*b*
 Table 3. Color analysis results in L*a*b*

Nazwa układu / Name of the system	L*	a*	b*
HSK2	60.37 ^b ± 0.03	-2.21 ^a ± 0.03	2.45 ^a ± 0.02
HSK4	51.66 ^c ± 0.01	-1.76 ^c ± 0.05	2.49 ^a ± 0.03
HSK7	73.18 ^a ± 0.01	-2.10 ^b ± 0.02	4.07 ^b ± 0.02

Objaśnienia / Explanatory notes:

^{a, b, c} – wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie statystycznie istotnie / ^{a, b, c} – values marked with different letters in columns differ statistically significantly

Odczyn kwasowo-zasadowy emulsji

Zbadano także odczyn pH emulsji, uzyskując wartości $5,15 \pm 0,06$; $5,16 \pm 0,03$ i $5,12 \pm 0,05$, odpowiednio dla HSK7, HSK2 i HSK4. Różnice między tymi pomiarami nie wykazują statystycznie istotnych różnic, co pozwala stwierdzić, że wzrost stężenia surfaktantu nie wpływa na odczyn kwasowo-zasadowy emulsji.

Wnioski

1. Przeprowadzone badania wskazują, że ekstrakt z orzechów piorących zawierający saponiny może być skutecznie stosowany jako surfaktant w emulsjach typu olej w wodzie na bazie oleju z nasion konopi siewnej, wzbogaconych w witaminę K.
2. Pożądane efekty stabilizujące przynosi już relatywnie niewielki dodatek ekstraktu z orzechów piorących, wynoszący $0,025 \text{ cm}^3$ ekstraktu o stężeniu 10 g/L na 25 cm^3 całej objętości próbki. Emulsja o takim składzie posiadała cząstki o średnim rozmiarze $z\text{-ave}$ bliskim 500 nm i indeksie polidispersyjności równym $0,5$. Emulsja zachowywała wysoką stabilność zarówno bezpośrednio po przygotowaniu, jak i po miesiącu przechowywania.
3. Badania reologiczne emulsji wskazują, że ma ona cechy płynu nienewtonowskiego, przy czym przy szybkości ścinania poniżej 140 1/s zachowywały się jak płyn rozrzedzany ścinaniem, a przy wyższych szybkościach ścinania – jak płynu zagęszczany ścinaniem.
4. Opracowane układy emulsyjne są bazą odniesienia do opracowania w przyszłości suplementów diety, przeznaczonych w szczególności dla osób wymagających wprowadzenia do posiłków płynnych preparatów witamin nierozpuszczalnych w wodzie.

Literatura

- [1] Zhang J., Reineccius G.A.: Factors controlling the turbidity of submicron emulsions stabilized by food biopolymers and natural surfactant. *LWT - Food Sci. Technol.* 2016, 71, 162-168,
- [2] Teh S.-S., Birch J. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils. *J. Food Compos. Anal.* 2013, 30, 26-31.
- [3] Siger A., Nogala-Kalucka M., Lampart-Szczapa E.: The Content And Antioxidant Activity Of Phenolic Compounds In Cold-Pressed Plant Oils. *J. Food Lipids* 2008, 15, 137-149.
- [4] Hwang H., Kim S., Winkler- Moser J.K., Lee S., Liu S.X.: Feasibility of hemp seed oil oleogels structured with natural wax as solid fat replacement in margarine. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2022, 99, 1055-1070.
- [5] Leizer C., Ribnický D., Poulev A., Dushenkov S., Raskin I.: The Composition of Hemp Seed Oil and Its Potential as an Important Source of Nutrition. *J. Nutraceuticals, Funct. Med. Foods*, 2000, 2, 35-53.
- [6] Vitorović J., Joković N., Radulović N., Mihajilov-Krstev T., Cvetković V.J., Jovanović N., Mitrović T., Aleksić A., Stanković N., Bernstein N.: Antioxidant Activity of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil in *Drosophila melanogaster* Larvae under Non-Stress and H₂O₂-Induced Oxidative Stress Conditions. *Antioxidants*, 2021, 10, 830.
- [7] Burton R.A., Andres M., Cole M., Cowley J.M., Augustin M.A.: Industrial hemp seed: from the field to value-added food ingredients. *J. Cannabis Res.* 2022, 4, 45.
- [8] Jarzębski M., Smulek W., Siejak P., Rezler R., Pawlicz J., Trzeciak T., Jarzębska M., Majchrzak O., Kaczorek E., Kazemian P.: *Aesculus hippocastanum* L. as a Stabilizer in Hemp Seed Oil Nanoemulsions for Potential Biomedical and Food Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 887.
- [9] Mondal M.H., Malik S., Garain A., Mandal S., Saha B.: Extraction of Natural Surfactant Saponin from Soapnut (*Sapindus mukorossi*) and its Utilization in the Remediation of Hexavalent Chromium from Contaminated Water. *Tenside Surfactants Deterg.* 2017, 54, 519-529.
- [10] Smulek W., Jarzębski M.: Hemp seed oil nanoemulsion with *Sapindus* saponins as a potential carrier for iron supplement and vitamin D. *Rev. Adv. Mater. Sci.* 2023, 62, 20220317.
- [11] Cockayne S., Adamson J., Lanham-New S., Shearer M.J., Gilbody S., Torgerson D.J.: Vitamin K and the Prevention of Fractures. *Arch. Intern. Med.* 2006, 166, 1256.
- [12] Beulens J.W.J., Booth S.L., van den Heuvel E.G.H.M., Stoecklin E., Baka A., Vermeer C.: The role of menaquinones (vitamin K 2) in human health. *Br. J. Nutr.* 2013, 110, 1357-1368.
- [13] Geleijnse J.M., Vermeer C., Grobbee D.E., Schurgers L.J., Knapen M.H.J., van der Meer I.M., Hofman A., Witteman J.C.M.: Dietary Intake of Menaquinone Is Associated with a Reduced Risk of Coronary Heart Disease: The Rotterdam Study. *J. Nutr.* 2004, 134, 3100-3105.
- [14] Shearer M.J., Bach A., Kohlmeier M.: Chemistry, Nutritional Sources, Tissue Distribution and Metabolism of Vitamin K with Special Reference to Bone Health. *J. Nutr.* 1996, 126, 1181S-1186S.
- [15] Schurgers L.J., Geleijnse J.M., Grobbee D.E., Pols H.A.P., Hofman A., Witteman J.C.M., Vermeer C.: Nutritional Intake of Vitamins K1 (Phylloquinone) and K2 (Menaquinone) in The Netherlands. *J. Nutr. Environ. Med.* 1999, 9, 115-122.
- [16] Weber, P. Vitamin K and bone health. *Nutrition* 2001, 17, 880-887.
- [17] DiNicolantonio, J.J.; Bhutani, J.; O'Keefe, J.H. The health benefits of vitamin K. *Open Hear*, 2015, 2, e000300.
- [18] Smulek W., Zdarta A., Łuczak M., Krawczyk P., Jesionowski T., Kaczorek E.: *Sapindus* saponins' impact on hydrocarbon biodegradation by bacteria strains after short- and long-term contact with pollutant. *Coll. Surf. B Biointerface.* 2016, 142, 207-213.

- [19] Pratap-Singh A., Guo Y., Lara Ochoa S., Fathordoobady F., Singh A.: Optimal ultrasonication process time remains constant for a specific nanoemulsion size reduction system. *Sci. Rep.* 2021, 11, 1-13.
- [20] Niyobuhungiro S.: Emulsion based on hemp seed oil stabilized by soap nuts as a possible vitamin K food supplement, Poznań University of Life Sciences, 2023.
- [21] McClements D.J.: Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 2012, 8, 1719-1729.
- [22] Fathordoobady F., Sannikova N., Guo Y., Singh A., Kitts D.D., Pratap-Singh A.: Comparing microfluidics and ultrasonication as formulation methods for developing hempseed oil nanoemulsions for oral delivery applications. *Sci. Rep.* 2021, 11, 72.
- [23] Jarzębski M., Fathordoobady F., Guo Y., Xu M., Singh A., Kitts D.D., Kowalczewski P.L., Jeżowski P., Pratap Singh A.: Pea Protein for Hempseed Oil Nanoemulsion Stabilization. *Molecules* 2019, 24.
- [24] Kieronska-Rudek A., Kij A., Kaczara P., Tworzydło A., Napiorkowski M., Sidoryk K., Chlopicki S.: Exogenous Vitamins K Exert Anti-Inflammatory Effects Dissociated from Their Role as Substrates for Synthesis of Endogenous MK-4 in Murine Macrophages Cell Line. *Cells*, 2021, 10, 1571.
- [25] Barnes H.A. Rheology of emulsions — a review. *Coll. Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 1994, 91, 89-95.
- [26] Akhtar M., Murray B.S., Dickinson E.: Perception of creaminess of model oil-in-water dairy emulsions: Influence of the shear-thinning nature of a viscosity-controlling hydrocolloid. *Food Hydrocoll.* 2006, 20, 839-847.
- [27] Rosti, M.E.; Takagi, S. Shear-thinning and shear-thickening emulsions in shear flows. *Phys. Fluids* 2021, 33.
- [28] Pal R. Rheology of simple and multiple emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2011, 16, 41-60.
- [29] Jović O., Jović A.: FTIR- ATR adulteration study of hempseed oil of different geographic origins. *J. Chemom.* 2017, 31.
- [30] Kowalska M., Turek P., Żbikowska A., Babut M., Szakiel J.: The Quality of Emulsions with New Synthetized Lipids Stabilized by Xanthan Gum. *Biomolecules* 2021, 11, 213.

ANALYSIS OF EMULSION SYSTEMS WITH HEMP OIL AS VITAMIN K SUPPLEMENTS

S u m m a r y

Introduction. Vitamin K plays an important role in the blood clotting process, improving bone health, reducing vascular calcification and cardiovascular risk, and has anti-inflammatory properties. The poor water solubility of vitamin K is a barrier to its introduction into functional foods. This makes it necessary to develop innovative forms of vitamin K supplements based on emulsion systems. Emulsions with sub-micron-sized droplets shows greater stability compared to macroscopic emulsions. Another challenge for the food technology is the need for alternatives to artificial surfactants. Plant extracts containing saponins in their structure, such as the soap nut extract used in this work, can be considered an alternative.

Results and conclusions. This study shows three optimal compositions of emulsions based on hemp oil (from *Cannabis sativa* L. seeds), stabilized with a soap nut extract in the amount of 0.025, 0.250 and 0.500 cm³ per 25 cm³ of the entire composition. Vitamin K was used as a health-promoting ingredient in an amount of 0.2 mg. After the emulsion systems were produced, they were examined in terms of particle/droplet sizes using dynamic light scattering. Their homogeneity was evaluated using an optical micro-

scope. The dynamic viscosity was determined with a rotational rheometer. An ATR-FTIR analysis, as well as color and pH measurements, of the emulsion were also carried out. All three emulsions tested were characterized by a high degree of stability after one month. The emulsions based on hemp oil whose droplet size is below 1 micrometer can provide an alternative to vitamin carriers. Whereas the soap nut extract may become an effective stabilizer/surfactant used in the food technology.

Key words: nanoemulsion; hemp oil; vitamin K; stability; soap nuts ☒

MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA,
DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA

WIELKOŚĆ GOSPODARSTWA DOMOWEGO I DZIEŃ TYGODNIA A POZIOM ZMARNOWANEJ ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Wprowadzenie. Marnotrawstwo żywności występuje we wszystkich ogniwach łańcucha żywnościowego, ale w segmencie gospodarstw domowych jest największe. Z tego powodu ważne jest poznanie zarówno przyczyn tego niekorzystnego zjawiska, jak i jego skali w obszarze konsumpcji. Celem pracy było oszacowanie wolumenu zmarnowanej żywności w 500 gospodarstwach domowych i w przeliczeniu na jedno gospodarstwo domowe, z uwzględnieniem pięciu grup produktów oraz zbadanie zależności między wielkością gospodarstwa domowego i kolejnych dni tygodnia a masą zmarnowanej żywności. Badanie zrealizowano w 2019 r. na reprezentatywnej, ogólnopolskiej losowo-kwotowej próbie 500 gospodarstw domowych w miejscu zamieszkania respondentów przez 7 kolejnych dni. Składało się ono z dwóch modułów: wywiadu zrealizowanego przez ankietera (metoda Computer-Assisted Personal Interviews) i papierowego dzienniczka, w którym wyznaczona w danym gospodarstwie domowym osoba notowała masę zmarnowanej żywności w każdym kolejnym dniu.

Wyniki i wnioski. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że w ciągu jednego tygodnia w każdym gospodarstwie domowym zmarnowano średnio 3,9 kg żywności, w tym ponad 1/3 średniej masy stanowiły części niejadalne powstające w czasie przygotowywania posiłków. W statystycznym gospodarstwie domowym, w ciągu tygodnia zmarnowano najczęściej owoców i warzyw, następnie pieczywa i produktów mleczarskich. Stwierdzono, że w polskich gospodarstwach domowych najczęściej produktów i półproduktów spożywczych wyrzuca się z chłodziarki domowej i/lub szafek w kuchni w sobotę. Natomiast daniem przygotowanym w gospodarstwie domowym i marnowanym w największym stopniu były zupy, które usuwano głównie w środę. W gospodarstwach ponad 3-osobowych marnowano więcej żywności w porównaniu z gospodarstwami jedno- i dwuosobowymi.

Słowa kluczowe: marnotrawstwo żywności, gospodarstwo domowe, wielkość gospodarstwa domowego, dzień tygodnia, skala marnotrawstwa żywności

Wprowadzenie

Do marnotrawstwa żywności dochodzi we wszystkich ogniwach łańcucha żywnościowego, ale w wielu badaniach jednoznacznie potwierdzono fakt, że na poziomie konsumpcji jest ono największe [16, 19, 25, 28]. Z tego powodu ważne jest poznanie czynników warunkujących to niekorzystne zjawisko. Aktas i wsp. (2018) stwierdzili, że normy społeczne i tożsamość (tradycja i kultura), zwyczaje (nawyki żywieniowe), umiejętność gotowania i warunki zewnętrzne (czynniki klimatyczne i ekonomiczne) w dużej mierze wyjaśniają przyczyny marnowania żywności w gospodarstwie domowym, ale są niewystarczające. Zdaniem Richter i Bokelmana [26] należy uwzględnić poziom świadomości skutków społecznych, środowiskowych i ekonomicznych marnotrawstwa żywności. Marnowanie żywności nie odzwierciedla jednego zachowania, ale raczej jest wynikiem sposobu, w jaki gospodarstwo domowe radzi sobie z planowaniem zakupów, ich realizacją, przygotowywaniem posiłków i konsumpcją [25]. Z tego powodu badając przyczyny i skalę marnotrawstwa żywności w gospodarstwach domowych nie można pominąć takich kwestii, jak: zakupy (planowanie, kupowanie na zapas, kupowanie pod wpływem impulsu), przechowywanie żywności (przestrzeganie zaleceń producentów, układanie zgodnie z zasadą FIFO), przygotowywanie posiłków (planowanie posiłków, wykorzystanie nieskonsumowanych resztek potraw), serwowanie potraw. Zdaniem Jörissen i wsp. [18] lista zakupów pozwala znacznie ograniczyć marnotrawstwo żywności. Natomiast Quested i wsp. [25] udowodnili, że istnieje silna pozytywna korelacja między tworzeniem listy zakupów a innymi zachowaniami, takimi jak planowanie posiłków z wyprzedzeniem i sprawdzanie zapasów żywności przed zakupami. Setti i wsp. [28] uznali proces zakupu żywności za kluczowy aspekt warunkujący jej marnotrawstwo, a do głównych przyczyn związanych z tym etapem zaliczono m.in. zbyt duże ilości zakupionej żywności [12, 29]. Wielu autorów udowodniło, że cechy społeczno-demograficzne konsumentów, takie jak wielkość gospodarstwa domowego, wiek, wykształcenie, status zatrudnienia, obecność dzieci w rodzinie i dochody wpływają na zachowania związane z marnotrawstwem żywności. W wielu badaniach wskazuje się, że osoby starsze marnują znacząco mniej żywności niż pozostałe grupy wiekowe [18, 29, 35]. Podobnie Hanssen i wsp. [17] wskazywali, że większą skłonność do marnowania żywności mają młodzi ludzie, dlatego też programy edukacyjne powinny być kierowane w dużej mierze do tych grup. Badania przeprowadzone przez Neffe-Skocińską i wsp. [22] potwierdziły, że wiek miał wpływ na częstotliwość wyrzucania 8 spośród 32 grup produktów. Osoby starsze tworzą zwykle jedno- lub dwuosobowe gospodarstwa, a wiele dostępnych wyników badań wskazuje na korelację pomiędzy ilością marnowanej żywności, a wielkością gospodarstwa domowego [6, 18, 25]. Jak wskazują badania Bilskiej i wsp. [7], segment odznaczający się najwyższą częstotliwością wyrzucania 15 grup produktów spożywczych stanowiły gospodarstwa domowe jedno- i dwuosobowe, bez dzieci. Poziom wykształcenia to kolejny czynnik

przyczyniający się do marnotrawstwa żywności, ponieważ osoby lepiej wyedukowane osiągają wyższe dochody, ale mają mniej czasu na lepsze gospodarowanie żywnością w domu. Odwrotną korelację stwierdzili na podstawie swoich badań Abdelradi [2] oraz Mattar i wsp. [21].

Złożoność uwarunkowań marnotrawstwa żywności w ogniwie konsumentów powoduje, że jego ograniczenie staje się dużym wyzwaniem. Natomiast monitorowanie postępów w tym zakresie nie jest możliwe bez poznania skali tego zjawiska. Jednocześnie należy zauważyć, że zdecydowana większość publikacji stosuje w badaniach kwestionariusz ankiety dotyczący zachowania polskich konsumentów w aspekcie marnotrawstwa żywności. Przeprowadzone przez autorów badanie jest pierwszym analizującym skalę tego zjawiska na reprezentatywnej próbie polskich gospodarstw domowych. Celem pracy było (1) przedstawienie wolumenu zmarnowanej żywności w 500 gospodarstwach domowych i w przeliczeniu na jedno gospodarstwo domowe w ciągu kolejnych siedmiu dni, z uwzględnieniem pięciu grup produktów, (2) zbadanie wpływu wielkości gospodarstwa domowego na masę zmarnowanej żywności, (3) określenie wpływu dnia tygodnia na poziom zmarnowanej żywności.

Material i metody badań

Badanie zrealizowano w 2019 r. na reprezentatywnej, ogólnopolskiej losowo-kwotowej próbie 500 gospodarstw domowych. Próbę dobrano z operatu adresowego TERYT¹. Próba była reprezentatywna dla ogółu polskich gospodarstw domowych ze względu na lokalizację (województwo, wielkość miejscowości) i wielkość gospodarstwa. Struktura próby ze względu na województwo, klasę wielkości miejscowości i wielkość gospodarstwa domowego była zgodna ze strukturą założoną na etapie doboru próby. Charakterystykę socjo-demograficzną gospodarstw biorących udział w badaniu przedstawiono w Tab. 1. Gospodarstwa domowe, w których realizowano badania ($n = 500$), liczyły łącznie 1222 osoby, wśród których 247 osób (20,21 %) stanowili niepełnoletni.

Badanie realizowane było w miejscu zamieszkania respondentów przez 7 kolejnych dni. Składało się ono z dwóch modułów: kwestionariusz uzupełniany przez ankietę (metoda CAPI: Computer-Assisted Personal Interviews) i dzienniczek, w którym wyznaczona w danym gospodarstwie domowym osoba, w każdym kolejnym dniu, notowała masę zmarnowanej żywności. W celu ułatwienia respondentom wypełniania dzienniczka, załączono do niego karty kodów przypisane do produktów/grup produktów, którymi konsumenci posługiwali się w trakcie badania. W karcie kodów produktów żywność została podzielona na 5 kategorii i 23 subkategorie: (1) surowce i półpro-

¹ TERYT - Krajowy Rejestr Urzędowego Podziału Terytorialnego Kraju prowadzony przez GUS. TERYT stanowi najbardziej wiarygodne i najbardziej aktualne źródło adresów, które może być zastosowane do realizacji badań w Polsce.

dukty wyrzucone z chłodziarki domowej, szafki (pieczywo, produkty zbożowe, słodycze i słone przekąski, nabiał, mięso i ryby świeże, mięso i ryby mrożone, wędliny, przetwory mięsne i rybne, tłuszcze, świeże i mrożone owoce/warzywa, przetwory owocowe i warzywne, dodatki/przyprawy i używki, napoje gazowane i niegazowane/soki); (2) gotowe dania otrzymane z zewnątrz (kupione, zamówione do domu z restauracji/barów, otrzymane od rodziny/przyjaciół); (3) dania przygotowane w domu (zupy, dania mięsne, dodatki skrobiowe, dania mieszane i bezmięsne, desery); (4) resztki talerzowe; (5) niejadalne części żywności powstałe w trakcie przygotowania posiłków. Respondentów poinformowano także o anonimowości i celu zbierania danych.

Tabela 1. Charakterystyka gospodarstw domowych biorących udział w badaniu (n = 500)

Table 1. Characteristics of households participating in the study (n = 500)

Cecha / Feature	Grupa / Group	Liczba / Number	%
Liczba osób w gospodarstwie domowym / Household size	1	139	27,80
	2	141	28,20
	3	99	19,80
	≥ 4	121	24,20
Liczba gospodarstw domowych z osobami niepełnoletnimi (poniżej 18 r. ż.) / Number of households with minors (under 18 years of age)	0	339	67,80
	1	85	17,00
	≥ 2	76	15,20
Typ budynku / Type of building	Dom jednorodzinny / Detached house	200	40,00
	Mieszkanie w bloku / Apartment in a block	300	60,00
Miesięczne dochody netto wszystkich członków gospodarstwa domowego / Net monthly income available for all household members	Poniżej / Under 1000 zł	1	0,20
	1001 ÷ 2000 zł	75	15,00
	2001 ÷ 4000 zł	197	39,40
	4001 ÷ 8000 zł	198	39,60
	8001 ÷ 15000 zł	24	4,80
	Powyżej / Over 15000 zł	5	1,00
Wydatki na żywność / Food expenditure	Znaczące / Significant (100 ÷ 80%)	1	0,20
	Przeważające / Majority (79 ÷ 61%)	62	12,40
	Okolo połowę / Approximately half (60 ÷ 40%)	252	50,40
	Niewielkie / Small (39 ÷ 16%)	178	35,60
	Małe / Low (15 ÷ 0%)	7	1,40

W celu zapewnienia standaryzacji każde gospodarstwo domowe, w którym realizowano badanie, zostało wyposażone w taki sam model wagi kuchennej. W każdym gospodarstwie domowym przez tydzień notowano w dzienniczku masę żywności (w gramach, po odjęciu masy opakowań i naczyń). Podczas wypełniania dzienniczka respondenci rejestrowali wszystkie produkty spożywcze/dania (kupione i otrzymane, gotowe i przygotowane w domu, przyniesione do domu: z pracy, szkoły, restauracji), które zostały wyrzucone, wylane do kanalizacji, oddane zwierzętom lub przeznaczone do kompostowania. Respondenci nie mogli rejestrować w dzienniczku: (1) dań niedojedzonych w pracy, szkole i tam pozostawionych, (2) jedzenia oddanego osobie z innego gospodarstwa domowego (np. sąsiadom, znajomym, rodzinie), (3) niedopitych napojów pozostawionych w szklankach, kubkach (z wyjątkiem soków, koktajli przygotowanych w domu). Po zakończeniu pomiarów, uzupełnione dzienniczki były odbierane przez ankieterów.

W celu interpretacji wyników wykorzystano narzędzia statystyki opisowej, takie jak wartość średnia/minimalna/maksymalna, mediana, moda, procent mody i odchylenie standardowe (SD). W celu określenia wpływu wielkości gospodarstwa domowego (liczby osób) na masę zmarnowanej żywności w ciągu tygodnia zastosowano jednozmienną analizę wariancji (ANOVA). Uzupełnieniem analizy wariancji było zbadanie istotności różnic pomiędzy średnim poziomem marnowania żywności w poszczególnych kategoriach gospodarstw domowych różniących się wielkością. Analizę post-hoc wykonywano testem NIR (najmniejszych istotnych różnic). Pozwoliło to na wskazanie jednorodnych grup średnich arytmetycznych. Weryfikację tę wykonano przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Analizę wykonano z wykorzystaniem pakietu Statistica 13 (StatSoft, Kraków, Poland).

Wyniki i dyskusja

Żywność marnowana w gospodarstwie domowym w ciągu tygodnia

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że w ciągu jednego tygodnia w 500 polskich gospodarstwach domowych (GD) zmarnowano łącznie 1944,21 kg żywności, co w przeliczeniu na jedno gospodarstwo stanowi 3,86 kg na tydzień (Rys. 1). Ponad 1/3 średniej masy zmarnowanej żywności stanowiły części niejadalne powstające w czasie przygotowywania posiłków (37,20 %). Wyniki statystyk opisowych zestawione w Tabeli 2, wskazały maksymalną masę tej frakcji żywności w gospodarstwie domowym na poziomie 12621,00 g/tydzień. Zaledwie w 1,8 % gospodarstw domowych nie odnotowano wyrzucenia w ciągu siedmiu kolejnych dni tej frakcji żywności (moda = 0,00; % mody = 1,80). Wysoka, w tym przypadku, wartość odchylenia standardowego świadczy o dużym rozproszeniu wartości wokół jej średniej. W czasie realizacji badań, produkty wyrzucane z chłodziarki domowej, zamrażar-

ki i szafek miały podobny udział (32,21 %) w masie zmarnowanej w ciągu tygodnia żywności w porównaniu z frakcjami niejadalnymi części generowanych w czasie przygotowywania posiłków (Rys.1). W tej kategorii żywności w statystycznym gospodarstwie domowym w ciągu tygodnia zmarnowano najwięcej owoców i warzyw, następnie pieczywa, produktów mleczarskich (Tab. 2). Badanie przeprowadzone przez Hanssena i wsp. [17] wykazało, że w norweskim gospodarstwie domowym, w ciągu tygodnia marnowano 8,86 kg żywności, (czyli ponad 2,3 razy więcej niż w polskim), przy czym frakcja niejadalna stanowi ok. 42,4 %.

Podobną strukturę wyrzucanych produktów, na podstawie swoich badań, zaobserwowało wielu badaczy. Jak stwierdzili Jörissen i wsp. [18] ponad 40 % respondentów „czasami i często” wyrzucało owoce, pieczywo, warzywa i ser. Zgodnie z informacjami przedstawionymi w raporcie WRAP [35] do najczęściej wyrzucanych produktów w Wielkiej Brytanii należały owoce i warzywa (30 %), następnie pieczywo i ciasta (20 %), surowe mięso i ryby (16 %), gotowe posiłki (13 %). W badaniu przeprowadzonym w Stanach Zjednoczonych, Conrad [8] wskazał, że mięso i owoce morza oraz owoce i warzywa to wiodące kategorie zmarnowanej żywności. Badania Hanssena i wsp. [17] wskazały, że pieczywo należy do najczęściej marnowanej żywności. Oczywiście należy mieć na uwadze, że częstotliwość marnowania żywności nie koresponduje bezpośrednio z jej masą. W badaniu przeprowadzonym w Polsce na reprezentatywnej grupie konsumentów powyżej 18. roku życia, z wykorzystaniem kwestionariusza ankiety wykazano, że pieczywo jest najczęściej marnowanym produktem. Na kolejnych pozycjach znalazły się takie produkty, jak: świeże owoce, warzywa tzw. nietrwałe typu sałata, rzodkiewka, pomidory, czy ogórki, wędliny oraz napoje mleczne [6,31]. W omawianym badaniu, zrealizowanym metodą ważenia, zostały potwierdzone obserwacje dotyczące częstotliwości marnowania pieczywa. Bowiem spośród wszystkich grup żywności zaprezentowanych w Tabeli 2, z wyjątkiem niejadalnych części żywności, pieczywo okazało się produktem marnowanym w większości gospodarstw domowych w tygodniu realizacji badań. Zaledwie w 17 % gospodarstw domowych (% mody) nie zanotowano, by ich domownicy marnowali omawiany produkt w czasie siedmiu dni ważenia.

W badaniach własnych stwierdzono, że biorąc pod uwagę kategorie surowców i półproduktów, w gospodarstwach domowych w ciągu tygodnia najmniej marnowało się: przetworów mięsnych i rybnych, tłuszczów, mrożonego mięsa i ryb, świeżego mięsa i ryb. Wartości mody oraz jej procentowy udział (Tab. 2) wskazują, że w ok. 4/5 gospodarstw domowych nie marnowano w ciągu tygodnia tego typu produktów (% mody, odpowiednio: 81,40; 80,60; 89,80; 80,00).

Na uwagę zasługują wyniki dotyczące marnowania dań w polskich gospodarstwach gotowych. Stwierdzono wprawdzie, że gotowe posiłki dostarczone z zewnątrz (kupione w sklepie, otrzymane np. od rodziny, czy zamówione w zakładzie gastrono-

micznym) stanowiły najmniejszy udział w masie zmarnowanej żywności w ciągu tygodnia (3,17 %), ale jednocześnie udział gotowych posiłków przygotowywanych w gospodarstwach wyniósł ponad 12 %. Ellison i Lusk [11] w swoich badaniach udowodnili natomiast, że amerykańscy konsumenci marnują mniej żywności, gdy spożywają droższe posiłki oraz gdy posiłki są konsumowane w domu. Ta obserwacja może wynikać z faktu, że posiłki przygotowane w domu, mają dla konsumentów wyższą wartość, biorąc pod uwagę poświęcony czas i poniesiony wysiłek na cały proces jego przygotowywania. Należy jednak podkreślić, że polscy konsumenci najczęściej spożywają posiłki przygotowane we własnym zakresie w domu i dość rzadko korzystają z usług gastronomicznych [31].

Decyzja o marnowaniu lub oszczędzaniu resztek może zdaniem Aschemann-Witzel i wsp. [4] zależeć od takich cech, jak: typ gospodarstwa domowego, etap na którym znajduje się rodzina (obecność dzieci), indywidualne zachowania. Walter i wsp. [33] stwierdzili, że na skłonność konsumentów do oszczędzania resztek, które pozostały po posiłku ma wpływ jego koszt oraz to czy zostało ich wystarczająco dużo na cały następny posiłek.

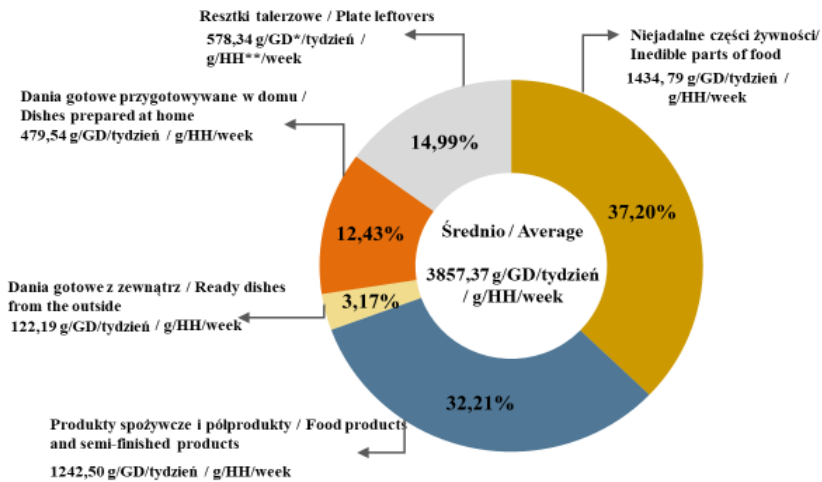
Jak wynika z przeprowadzonych badań własnych, gotowym daniem marnowanym w największym stopniu są zupy. W statystycznym gospodarstwie domowym, w ciągu tygodnia marnuje się blisko 200 g tego typu potrawy. Zaledwie w przypadku około połowy gospodarstw biorących udział w badaniu (% mody = 54,40) nie odnotowano wyrzucenia zupy w ciągu siedmiu kolejnych dni. W gospodarstwie domowym, tygodniowo marnowane jest blisko 80 g dodatków skrobiowych, 70 g dań mięsnych (Tab. 2). Wraz z większym zaangażowaniem osób prowadzących gospodarstwo domowe, zwłaszcza kobiet, w pracę zawodową, częścią stylu życia staje się z jednej strony spożywanie posiłków poza domem bądź zamawianie gotowych potraw do domu [1], z drugiej zaś przygotowanie większej ilości posiłków w domu z pewnym wyprzedzeniem czasowym. Ponieważ polscy konsumenci rzadko mrozą niewykorzystaną żywność, w tym gotowe posiłki [32], po kilkudniowym przechowywaniu w szafie chłodniczej nieskonsumowane dania zwykle są wyrzucane. Jak podkreślają Graham-Rowe i wsp. [12], część konsumentów w gospodarstwach domowych zakłada bowiem, że ich spożycie jest ryzykowne.

Natomiast niedostosowanie masy przygotowanych posiłków do potrzeb członków gospodarstwa domowego może skutkować marnotrawstwem resztek [13]. Resztki talerzowe (zarówno jadalne i niejadalne) stanowiły natomiast prawie 15 % masy żywności wyrzuconej w ciągu tygodnia. Stwierdzono, że w około 1/4 gospodarstw domowych nie było resztek talerzowych (% mody = 26,40), a najwyższa zanotowana masa resztek, wyniosła prawie 9 kg w ciągu tygodnia.

Uzyskane wyniki wskazały, że w dużej części gospodarstw nie marnowano w ciągu siedmiu dni badań większości badanych subkategorii żywności (% mody).

Wyniki te są zgodne m.in. z badaniami Qi i wsp. [23] i Li i wsp. [20] przeprowadzonymi w Chinach. Autorzy badania tłumaczą to m.in. niedostatecznymi warunkami ekonomicznymi i udziałem w badaniu gospodarstw z obszarów wiejskich, w których marnuje się porównywalnie mniej żywności. W badaniach własnych 39% gospodarstw zlokalizowanych było na wsi, co może w pewnym zakresie tłumaczyć uzyskane wyniki.

Analizując średnią masę pięciu kategorii żywności zmarnowanych w ciągu tygodnia w gospodarstwie domowym, można wskazać, że co najmniej 50 %, (czyli ok. 1844 g) zmarnowanej żywności można było uniknąć. Zważywszy, że w badaniu własnym resztki talerzowe zawierały części jadalne i niejadalne, udział ten jest z pewnością większy. W badaniach przeprowadzonych w Wielkiej Brytanii także oszacowano, że możliwe było uniknięcie ok. 60 % zmarnowanej żywności [25]. Znaczny udział zmarnowanej żywności, której można było uniknąć, stwarza szanse na ograniczenia tego niekorzystnego zjawiska.



Rys. 1. Średnia masa zmarnowanej w ciągu tygodnia żywności w gospodarstwie domowym, z uwzględnieniem kategorii żywności

Fig. 1. Average food waste in households per week taking into account food categories

Objaśnienia / Explanatory notes:

*GD - Gospodarstwo Domowe, **HH - Household

Tabela 2. Wartości statystyk opisowych dotyczące średniej masy zmarnowanej żywności w ciągu tygodnia w gospodarstwie domowym

Table 2. Descriptive statistics results regarding the average weight of food wasted per week in a household

Kategorie żywności / Food category		Zmarnowana żywność (g/GD/tydzień)/ Food waste (g/HH/week)				SD	Moda / Mode	% Mody / Mode
		Śr./ Mean	Min.	Max.	Mediana / Median			
Niejadalne części żywności / Inedible parts of food		1434,79	0,00	12621,00	1091,00	1358,13	0,00	1,80
Surowce i półprodukty spożywcze / Food products and semi-products	Świeże, mrożone owoce i warzywa / Fresh, frozen fruit and vegetables	315,42	0,00	7918,00	120,00	630,57	0,00	30,20
	Pieczywo / Bread	234,30	0,00	3100,00	126,00	323,77	0,00	17,00
	Produkty mleczarskie / Dairy products	155,39	0,00	3879,00	50,00	293,34	0,00	39,40
	Napoje gazowane i niegazowane, soki / Carbonated and still drinks, juices	97,52	0,00	3856,00	0,00	325,93	0,00	75,60
	Wędliny / Cold cuts	89,32	0,00	5050,00	20,50	274,80	0,00	35,40
	Dodatki, przyprawy i używki / Additives, spices and stimulants	76,92	0,00	3067,00	0,00	254,10	0,00	68,60
	Produkty zbożowe / Cereal products	75,38	0,00	5000,00	0,00	313,15	0,00	74,00
	Przetwory owocowe i warzywne / Fruit and vegetable preserves	51,94	0,00	5252,00	0,00	261,44	0,00	77,40
	Słodycze i słone przekąski / Sweets and salty snacks	45,45	0,00	1975,00	0,00	160,35	0,00	73,40
	Świeże mięso i ryby / Fresh meat and fish	44,72	0,00	3259,00	0,00	189,76	0,00	80,00
	Mrożone mięso i ryby / Frozen meat and fish	32,77	0,00	3636,00	0,00	222,09	0,00	89,80
	Tłuszcze / Fats	31,05	0,00	3295,00	0,00	177,82	0,00	80,60
	Przetwory mięsne i rybne / Meat and fish preserves	23,35	0,00	980,00	0,00	77,74	0,00	81,40
Dania z zewnątrz / Ready dishes from the outside	Dania kupione / Ready-made dishes	54,38	0,00	3164,00	0,00	219,17	0,00	82,80
	Dania otrzymane /dishes received	36,19	0,00	1369,00	0,00	133,95	0,00	88,40
	Gotowe dania zamówione / Dishes ordered	31,62	0,00	1138,00	0,00	115,14	0,00	86,40

Dania przygotowane w domu / Dishes prepared at home	Zupy / Soups	183,93	0,00	2940,00	0,00	360,14	0,00	54,40
	Dania mieszane / Mixed dishes	104,41	0,00	2172,00	0,00	231,32	0,00	64,60
	Dodatki skrobiowe / Starch additives	78,11	0,00	3635,00	0,00	238,94	0,00	67,80
	Dania mięsne / Meat dishes	67,79	0,00	1650,00	0,00	172,56	0,00	71,00
	Desery / Desserts	45,29	0,00	1040,00	0,00	127,43	0,00	75,20
Resztki talerzowe / Plate leftovers		578,34	0,00	8821,00	208,50	1006,86	0,00	26,40

Wpływ dnia tygodnia na poziom marnowanej żywności

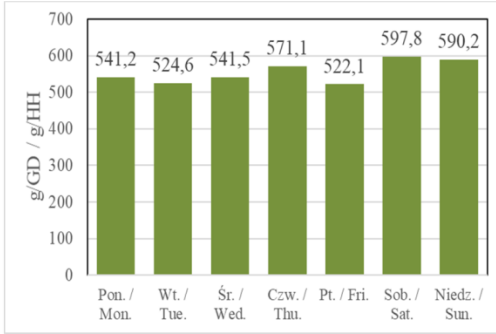
W badaniach zweryfikowano wpływ dnia tygodnia na ogólną masę zmarnowanej żywności i na pięć jej kategorii. Uwzględniając masę ogólną żywności zmarnowanej w ciągu tygodnia badań (1944,21 kg), najwięcej zmarnowano jej w dni weekendowe, tj. sobotę i niedzielę, odpowiednio 15,37 % i 15,18 % (Tab. 3). Określono, że w sobotę marnowano średnio 598 g żywności w przeliczeniu na jedno gospodarstwo domowe, a w niedzielę – nieco ponad 590 g (Rys. 2a).

Dalsza analiza, uwzględniająca poszczególne kategorie żywności (Tab. 3), pozwoliła stwierdzić, że w 500 gospodarstwach domowych w poszczególnych dniach tygodnia zmarnowano: (1) niejadalnych części żywności powstałych w czasie przygotowywania posiłków od 95,19 (wtorek) do 113,40 kg (niedziela), (2) surowców i półproduktów spożywczych od 84,35 kg (wtorek) do 105,69 kg (sobota), (3) dań gotowych z zewnątrz od 7,83 kg (wtorek) do 10,19 kg (czwartek), (4) dań przygotowanych w domu od 28,27 kg (piątek) do 37,33 kg (środa), oraz (5) resztek talerzowych od 37,57 kg (poniedziałek) do 51,80 kg (niedziela).

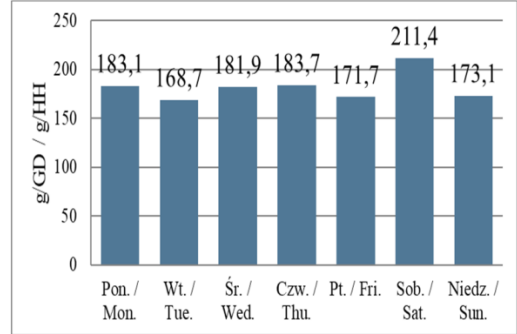
Tabela 3. Masa zmarnowanej w żywności (kg) w gospodarstwach domowych (n = 500) z uwzględnieniem dnia tygodnia (%)

Table 3. Mass of food wasted (kg) in households (n = 500) including days of the week (%)

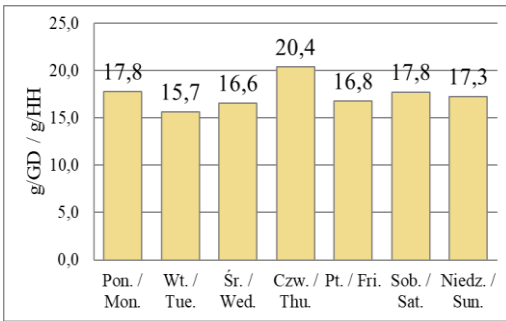
Dzień tyg./ Day of the week	Ogółem / Total	Kategorie żywności / Food category				
		Niejadalne części żywności / Inedible parts of food	Surowce i półprodukty spożywcze / Food products and semi- products	Dania z zewnątrz/ Ready dishes from the outside	Dania przygotowane w domu / Dishes prepared at home	Resztki talerzowe / Plate leftovers
Pon./ Mon.	270,59 (13,92 %)	99,44 (13,86 %)	91,54 (14,38 %)	8,90 (14,56 %)	33,13 (13,82 %)	37,57 (12,99 %)
Wt. / Tue.	262,28 (13,49 %)	95,19 (13,27 %)	84,35 (13,25 %)	7,83 (12,81 %)	36,09 (15,05 %)	38,83 (13,43 %)
Śr. / Wed.	270,75 (13,93 %)	96,20 (13,41 %)	90,95 (14,28 %)	8,29 (13,56 %)	37,33 (15,57 %)	37,99 (13,14 %)
Czw. / Thu.	285,55 (14,69 %)	108,04 (15,06 %)	91,85 (14,42 %)	10,19 (16,67 %)	34,52 (14,40 %)	40,95 (14,16 %)
Pt. / Fri.	261,04 (13,43 %)	100,90 (14,07 %)	85,85 (13,48 %)	8,39 (13,73 %)	28,27 (11,79 %)	37,62 (13,01 %)
Sob. / Sat.	298,92 (15,37 %)	104,21 (14,53 %)	105,69 (16,60 %)	8,88 (14,53 %)	35,72 (14,90 %)	44,41 (15,36 %)
Niedz. / Sun.	295,09 (15,18 %)	113,40 (15,81 %)	86,54 (13,59 %)	8,64 (8,64 %)	34,71 (14,48 %)	51,80 (17,91 %)
Suma / Total	1944,21	717,38	636,77	61,12	239,77	289,17



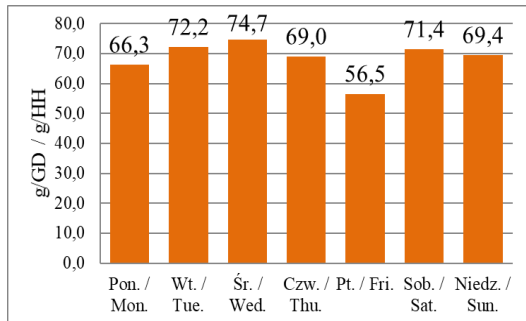
a) żywność ogółem / total food



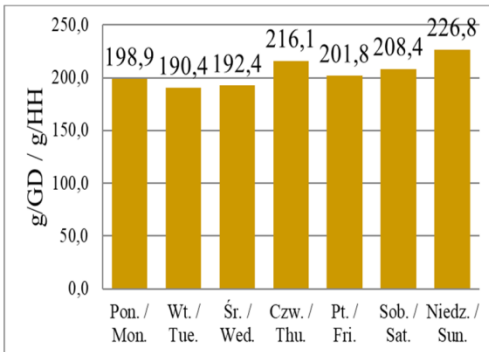
b) produkty spożywcze i półprodukty / food products and semi-products



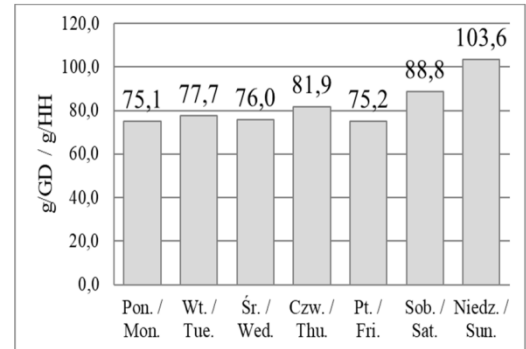
c) dania gotowe z zewnątrz / ready dishes from the outside



d) dania przygotowane w domu / dishes prepared at home



e) niejadalne części żywności / inedible parts of food



f) resztki talerzowe / plate leftovers

Rys. 2. Średnia masa zmarnowanej żywności (g) w przeliczeniu na 1 gospodarstwo domowe z uwzględnieniem kategorii żywności (a-f) oraz dnia tygodnia

Fig. 2. Average weight of wasted food (g) per household, taking into account food categories (a-f) and day of the week

Średnia masa zmarnowanej żywności, w przeliczeniu na jedno gospodarstwo domowe, z uwzględnieniem kategorii żywności, została zaprezentowana na rysunku 2 (b-f). Stwierdzono, że w statystycznym gospodarstwie domowym, najczęściej produktów i półproduktów spożywczych wyrzuca się z chłodziarki domowej czy szafek w kuchni w sobotę, czyli w dzień, w którym Polacy najczęściej robią zakupy spożywcze. Podkreśla się, że po wprowadzeniu w 2018 roku zakazu handlu w niedzielę, ten dzień stał się wyjątkowo ważny dla większości kanałów handlu, a w szczególności dla dyskontów oraz hipermarketów [34]. Wykazano, że zachowania zakupowe, a także sam proces przygotowania do zakupów przyczyniają się do marnowania żywności w gospodarstwach domowych [30], a korzystanie z listy zakupów pozwala znacznie ograniczyć to zjawisko [27]. Nie bez znaczenia jest też częstotliwość zakupów. Di Talia i wsp. [10] w swoich badaniach wykazały, że niska częstotliwość zakupów żywności zwiększa tendencję do jej marnowania w gospodarstwach domowych. Natomiast Østergaard i Hanssen [24], badając marnotrawstwo świeżego pieczywa, odkryli, że osoby marnujące więcej chleba kupują go częściej i w większych ilościach.

W badaniach własnych stwierdzono, że w pozostałe dni tygodnia (poza sobotą), w przeciętnym gospodarstwie domowym wyrzucano od 20,2 % (wtorek) do 13,1 % (czwartek) mniej produktów spożywczych z szafek i szaf chłodniczych (Rys. 2 b). Uwagę zwrócono także na masę zmarnowanych dań, które przygotowano w domu (Rys. 2 d). Stwierdzono, że w statystycznym gospodarstwie domowym największej ich ilości pozbywano się w środę. Biorąc pod uwagę fakt, że daniami marnowanymi w największym stopniu są zupy, a następnie dania mieszane (Tab. 2), można sądzić, że konsumenci, którzy przygotowali je w weekend, po 2 ÷ 3 dniach przechowywania, wyrzucają nieskonsumowaną część. Najmniej gotowych dań w statystycznym polskim gospodarstwie domowym marnuje się w piątek (o 24,4 % mniej w stosunku do środy).

Ze względu na fakt, że w masie resztek talerzowych zawarte są zarówno części niejadalne, jak i jadalne, szczególną uwagę zwrócono także na tę frakcję żywności (Rys. 2 f). Określono, że największa masa resztek talerzowych generowana jest w gospodarstwie domowym w dni weekendowe, zwłaszcza w niedzielę. W dniach roboczych w statystycznym gospodarstwie domowym wyrzucano od 27,5 % (poniedziałek) do 20,9 % (czwartek) mniej resztek talerzowych w stosunku do niedzieli.

Struktura gospodarstwa domowego a poziom zmarnowanej żywności

Analizując dane, zweryfikowano wpływ wielkości gospodarstwa domowego (liczba osób) na masę zmarnowanej żywności, w ciągu tygodnia (Tab. 4). Analiza wariancji wskazała, że jedynie w przypadku dań gotowych otrzymanych/nabytych z zewnątrz, wielkość gospodarstwa domowego nie miała istotnego wpływu na zmarnowaną masę. W gospodarstwach 3-, 4- i powyżej 4-osobowych zmarnowano więcej żywności, w porównaniu z gospodarstwami 1- i 2-osobowymi. W gospodarstwach 1- i

2-osobowych zmarnowano porównywalną masę (grupa jednorodna) surowców i półproduktów spożywczych, dań przygotowywanych w domu, resztek talerzowych. Stwierdzono, że w gospodarstwach 2-osobowych wyrzucano istotnie więcej jedynie niejadalnych części żywności powstałych w czasie przygotowywania posiłków (grupa niejednorodna), w stosunku do gospodarstw 1-osobowych. Różnica ta spowodowana była zapewne faktem, że m.in. w gospodarstwach domowych jednoosobowych, podobnie jak w gospodarstwach osób wyżej wykształconych, czy w rodzinach niepełnych oraz wśród małżeństw z jednym dzieckiem, obserwowane są większe wydatki na usługi gastronomiczne [15]. Zatem w najmniejszych gospodarstwach, korzystających częściej z usług gastronomicznych, konsumenci rzadziej przygotowują posiłki w domu, a tym samym generują mniejszą masę niejadalnych części żywności powstałych w czasie ich przygotowywania.

Tabela 4. Średnia masa zmarnowanej w ciągu tygodnia żywności (g) z uwzględnieniem wielkości gospodarstwa domowego

Table 4. Average weight of food wasted per week (g) taking into account a size of the household

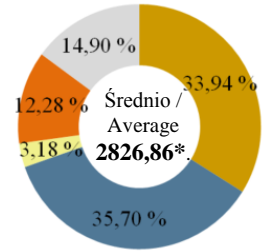
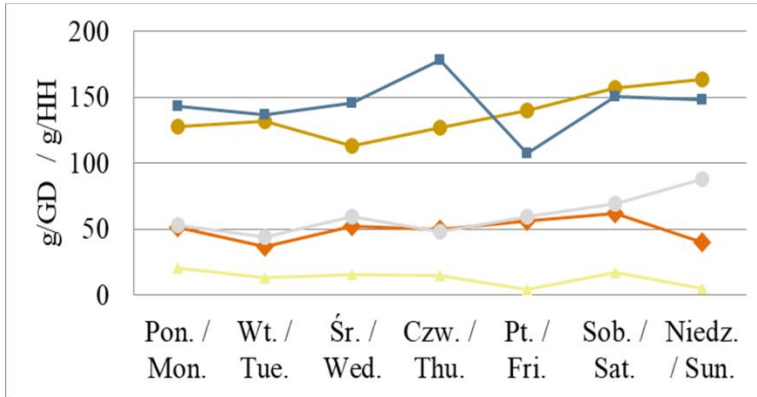
Kategoria żywności / Food category	Wyniki analizy wariancji / Results of the analysis of variance		Wielkość gospodarstwa domowego / Household size			
	p-wartość / p-value	F	1.	2.	3.	≥ 4.
Niejadalne części żywności / Inedible parts of food	0,000*	11,50	959,42 ^a	1357,76 ^b	1722,99 ^{cd}	1834,84 ^d
Surowce i półprodukty spożywcze / Food products and semi-products	0,015*	3,51	1009,17 ^a	1076,08 ^a	1731,00 ^b	1433,12 ^{ab}
Dania gotowe z zewnątrz / Ready dishes from the outside	0,060	2,48	89,88	94,57	188,18	137,52
Dania przygotowane w domu / Dishes prepared at home	0,000*	7,90	347,04 ^a	382,70 ^{ab}	521,31 ^b	710,43 ^c
Resztki talerzowe / Plate leftovers	0,025*	3,13	421,34 ^a	507,64 ^{ab}	784,31 ^c	672,55 ^{bc}
Ogółem / Total	0,000*	11,05	2826,86 ^a	3418,74 ^a	4947,80 ^b	4788,47 ^b

Objaśnienia / Explanatory notes:

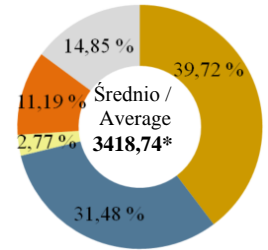
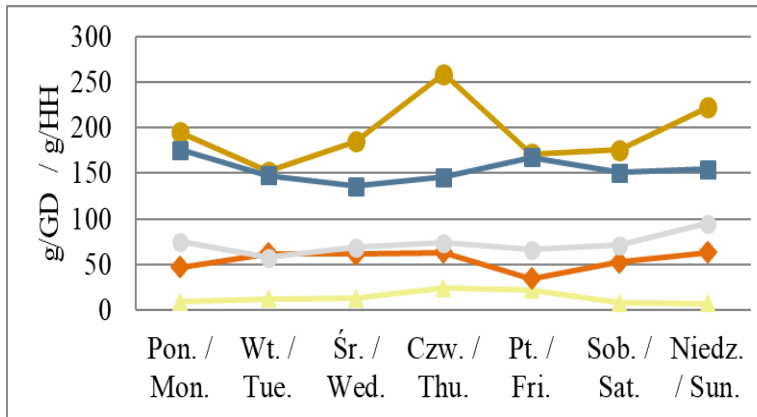
* $p < 0,05$

Chociaż największą masę zmarnowanych surowców i półproduktów spożywczych oraz resztek talerzowych odnotowano w przypadku gospodarstw 3-osobowych, to na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej nie stwierdzono, by różnica ta była znacząca w stosunku do gospodarstw 4-osobowych i większych (grupa jednorodna). Zauważono natomiast, że w największych gospodarstwach domowych marnowano w ciągu tygodnia istotnie więcej dań przygotowanych w domu (Tab. 4).

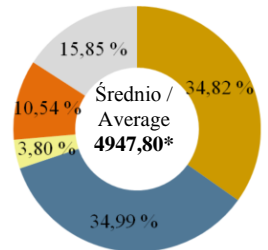
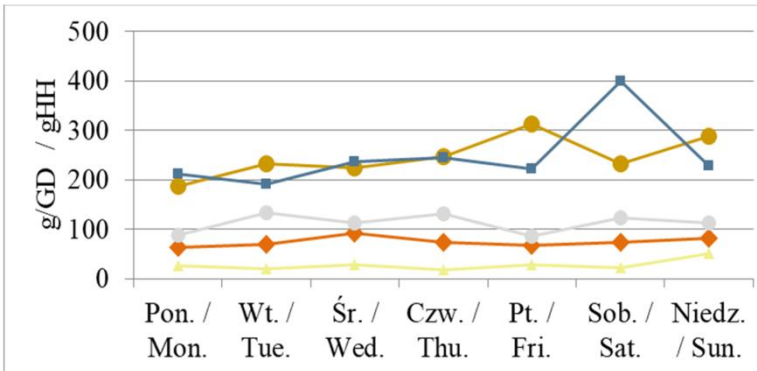
a) gospodarstwa domowe jednoosobowe / single-person households



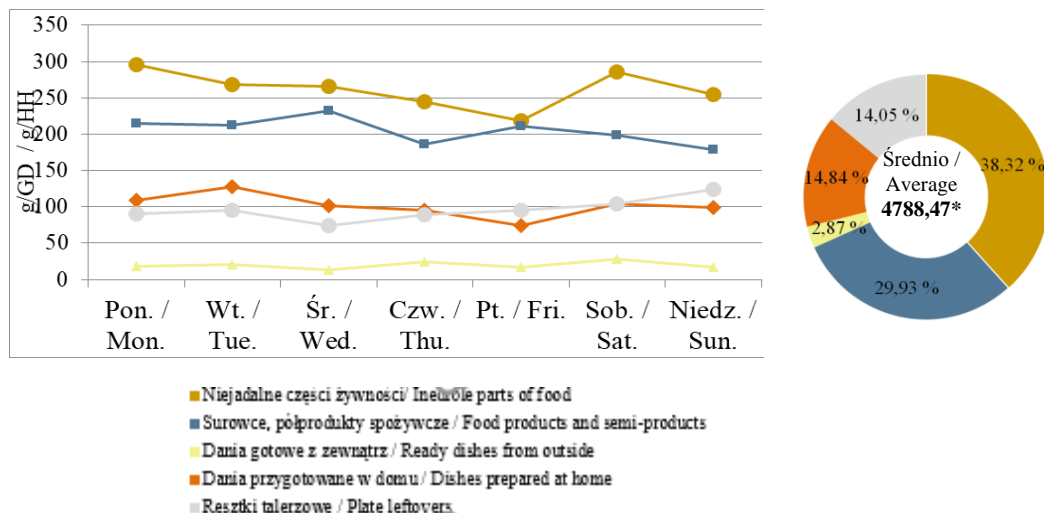
b) gospodarstwa domowe dwuosobowe / two-person households



c) gospodarstwa domowe trzyosobowe / three-person households



d) gospodarstwa domowe czterosobowe i powyżej / households of four and more people



Rys. 3. Średnia masa zmarnowanej żywności (g) w przeliczeniu na 1 gospodarstwo domowe z uwzględnieniem kategorii żywności, tygodnia oraz wielkości gospodarstwa domowego (a-d)

Fig. 3. Average weight of wasted food (g) per household, taking into account food category, week and household size (a-d)

Objaśnienia / Explanatory notes:

*GD - Gospodarstwo Domowe, **HH - Household

Zwracając uwagę na masę zmarnowanej żywności w gospodarstwach domowych o różnej strukturze z uwzględnieniem poszczególnych dni tygodnia stwierdzono, że wyrzucanie surowców i półproduktów spożywczych z chłodziarki domowej i szafki w sobotę ma miejsce przede wszystkim w gospodarstwach 3-osobowych (Rys. 3 c). Odnotowano, że w tym dniu weekendowym, w tego typu gospodarstwach domowych zmarnowano średnio 399,4 g surowców i półproduktów spożywczych, podczas gdy w gospodarstwach 1-osobowych wyrzucano 150,3 g, w gospodarstwach 2-osobowych – 150,4 g, a gospodarstwach 4-osobowych i większych – 198,8 g. Analiza danych pozwoliła stwierdzić, że w gospodarstwach domowych 3-osobowych dominował model składający się z dwóch osób dorosłych i jednej osoby niepełnoletniej (n = 54, 54,5 %), następnie z trzech osób pełnoletnich (n = 42, 42,4 %). Obserwacja ta wydaje się istotna w kontekście prognoz dotyczących liczby gospodarstw domowych i ich struktury w Polsce do 2050 roku. Liczba gospodarstw domowych według danych Narodowego Spisu Powszechnego z 2021 roku wynosiła 12 516 459. Przeciętna liczba osób w gospodarstwie domowym wyniosła 2,99, natomiast dzieci – 1,61 [5]. Prognozy dotyczące gospodarstw domowych w Polsce wskazują, że przeciętna liczba osób przypadających na gospodarstwo będzie się systematycznie zmniejszać i w roku 2050 wyniesie około 2,50. Wskazuje się też, że w gospodarstwach z dziećmi dominować będzie model z jednym nieletnim (15,4 %), podczas gdy zaledwie 7,7 % gospodarstw będzie

miało 2 dzieci. Według prognozy ok. 3/4 polskich gospodarstw domowych w roku 2050 będą stanowiły gospodarstwa bezdzietne [14]. Dlatego też, w kontekście marnotrawstwa żywności, wydaje się szczególnie istotne zwrócenie uwagi na mniejsze gospodarstwa domowe, w tym szczególnie 3-osobowe.

W gospodarstwach 1-osobowych, czwartek okazał się dniem, w którym stwierdzono największą średnią masę wyrzucanych z chłodziarki domowej i szafek surowców i półproduktów spożywczych. Zwrócono uwagę na fakt, że zarówno w gospodarstwach 1-, jak i 3-osobowych udział zmarnowanych surowców i półproduktów stanowił ok. 35 % w ogólnej masie żywności zmarnowanej w ciągu tygodnia badań (Rys. 3 a, c), podczas gdy w pozostałych typach gospodarstw wyniósł on ok. 30 % (Rys. 3 b, d). W gospodarstwach 2- i 4-osobowych masa wyrzucanych w poszczególnych dniach tygodnia surowców i półproduktów spożywczych była na porównywalnym poziomie.

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że w ciągu jednego tygodnia w statystycznym gospodarstwie domowym zmarnowano 3,9 kg żywności, w tym ponad 1/3 średniej masy stanowiły części niejadalne powstające w czasie przygotowywania posiłków.
2. W statystycznym gospodarstwie domowym w ciągu tygodnia najwięcej zmarnowano owoców i warzyw (średnio 315,42 g), pieczywa (średnio 234,30 g) i produktów mleczarskich (średnio 155,39 g).
3. Stwierdzono, że w polskich gospodarstwach domowych najwięcej produktów i półproduktów spożywczych wyrzucano z chłodziarki domowej i/lub szafek w kuchni w sobotę.
4. Zupy, jako dania przygotowane w gospodarstwach domowych, były marnowane w największej masie.
5. W gospodarstwach 3-osobowych i liczniejszych marnowano więcej żywności w porównaniu z gospodarstwami 1- i 2-osobowymi.
6. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono, że jedynie w przypadku dań gotowych otrzymanych/nabytych z zewnątrz, wielkość gospodarstwa domowego nie miała istotnego wpływu na zmarnowaną masę.

Badania zostały sfinansowane na podstawie umowy z Narodowym Centrum Badań i Rozwoju Nr Gospostrateg1/385753/1/NCBR/2018 na realizację i finansowanie projektu w ramach strategicznego programu badań i prac rozwojowych "Społeczny i gospodarczy rozwój Polski w warunkach globalizujących się rynków - GOSPOSTRATEG" zatytułowanego "Opracowanie systemu monitorowania marno-

wanej żywności i efektywnego programu racjonalizacji strat i marnotrawstwa żywności” (akronim PROM).

Literatura

- [1] Aakanksha B., Seema S.: Identifying determinants of household food waste behavior in urban India. *Clean. Waste Syst.*, 2023, 6, #100105.
- [2] Abdelradi F.: Food waste behaviour at the household level: A conceptual framework. *Waste Manag.*, 2018, 71, 485-493.
- [3] Aktas E., Sahin H., Topaloglu Z., Oledinma, A., Huda A.K.S., Irani Z., Sharif A.M., van't Wout T., Kamrava M.: A consumer behavioural approach to food waste. *J. Enterprise Informat. Manag.*, 2018, 31(5), 658-673.
- [4] Aschemann-Witzel J. De Hooge I., Amani P., Bech-Larsen T., Oostindjer M.: Consumer-related food waste: causes and potential for action. *Sustainability*, 2015, 7, 6457-6477.
- [5] Bank Danych Lokalnych, Narodowe Spisy Powszechne, Gospodarstwa domowe i rodziny. [on line]. GUS. Dostęp w Internecie [12.10.2023]: <https://bdl.stat.gov.pl/bdl/dane>.
- [6] Bilska B, Tomaszewska M., Kołożyn-Krajewska D.: Analysis of the Behaviors of Polish Consumers in Relation to Food Waste. *Sustainability*, 2020a, 12, #304.
- [7] Bilska B., Tomaszewska M., Kołożyn-Krajewska D., Piecek, M.: Segmentation of Polish households taking into account food waste. *Foods*, 2020b, 9, 4, 1-19.
- [8] Conrad Z.: Daily Cost of Consumer Food Wasted, Inedible, and Consumed in the United States, 2001-2016. *Nutr. J.*, 2020, 19, #35.
- [9] den Boer, J., Kobel, P., den Boer, E., Obersteiner, G., 2023. Food waste quantities and composition in Polish households. *Waste Manag. Res.*, 41(8), 1-13.
- [10] Di Talia, E., Simeone M., Scarpato, D.: Consumer Behaviour Types in Household Food Waste. *J. Clean. Prod.*, 2019, 214, 166-172.
- [11] Ellison B. and Lusk J.L.: Examining household food waste decisions: a vignette approach. *Appl. Econ. Perspect. Policy*, 2018, 40, 613-31.
- [12] Graham-Rowe E., Jessop D.C., Sparks, P.: Identifying motivations and barriers to minimising household food waste. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2014, 84, 15-23.
- [13] Gunders D.: How America is losing up to 40 percent of its food from farm to fork to landfill. *Natural Resources Defense Council*, 2017, 1-26.
- [14] GUS, 2016. Główny Urząd Statystyczny. Prognoza gospodarstw domowych na lata 2016-2050, Warszawa.
- [15] Gutkowska K., Piekut, M.: Korzystanie z usług gastronomicznych przez Polaków. *Zeszyty Naukowe SGGW, Polityki Europejskie, Finanse i Marketing*, 2016, 16 (65), 15-24.
- [16] Łaba S., Bilska B., Tomaszewska M., Łaba R., Szczepański K., Tul-Krzyszczuk A., Kosicka-Gębska M., Kołożyn-Krajewska D.: Próba oszacowania strat i marnotrawstwa żywności w Polsce. *Przem. Spoż.*, 2020, 74, 11, 10-18.
- [17] Hanssen O.J., Syversen F., Stø E.: Edible food waste from Norwegian households – Detailed food waste composition analysis among households in two different regions in Norway. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2016, 109, 146-154.
- [18] Jörissen J., Priefer C., Bräutigam K-R.: Food Waste Generation at Household Level: Results of a Survey among Employees of Two European Research Centers in Italy and Germany. *Sustainability*, 2015, 7, 2695-2715.
- [19] Katsarova I.: Tackling food waste: The EU’s contribution to a global issue. *EPRS European Parliamentary Research Service*, Strasbourg, 2016.

- [20] Li Y., Wang L., Liu G., Cheng S.: Rural household food waste characteristics and driving factors in China. *Resour., Conserv. Recycl.* 2021, 164, #105209.
- [21] Mattar L., Abiad M.G., Chalak A., Diab M., Hassan H.: Attitudes and Behaviors Shaping Household Food Waste Generation: Lessons from Lebanon. *J. Clean. Prod.*, 2018, 198, 1219-1223.
- [22] Neffe-Skocińska K., Tomaszewska M., Bilka B., Kołożyn-Krajewska D.: Zachowania starszych konsumentów wobec zjawiska marnotrawstwa żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2020, 27, 1(122), 122-136.
- [23] Qi D., Apolzan J.W., Li R., Roe B.E.: Unpacking the decline in food waste measured in Chinese households from 1991 to 2009. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2020, 160, 104893.
- [24] Øsstergaard S., Hanssen O. J.: Wasting of Fresh-Packed Bread by Consumers—Influence of Shopping Behavior, Storing, Handling, and Consumer Preferences. *Sustainability*, 2018, 10 (7), #2251.
- [25] Quested T. E., Marsh E., Stunell D., Parry A.D.: Spaghetti Soup: The Complex World of Food Waste Behaviours. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2013, 79, 43-51.
- [26] Richter B., Bokelmann W.: Explorative study about the analysis of storing, purchasing and wasting food by using household diaries. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2017, 125, 181-187.
- [27] Russell S. V., Young C. W., Unsworth K. L., Robinson C.: Bringing Habits and Emotions into Food Waste Behaviour. *Resour. Conserv. Recycl.*, 2017, 125, 107-114.
- [28] Setti M., Banchelli F., Falasconi L., Segrè A., Vittuari M.: Consumers' food cycle and household waste. When behaviors matter. *J. Clean. Prod.*, 2018, 185, 694-706.
- [29] Stancu V., Haugaard P., Lähteenmäki L.: Determinants of consumer food waste behaviour: Two routes to food waste. *Appetite*, 2016, 96, 7-17.
- [30] Stefan V., Van Herpen E., Tudoran A.A., Lähteenmäki L.: Avoiding Food Waste by Romanian Consumers: The Importance of Planning and Shopping Routines. *Food Qual. Pref.*, 2013, 28, 375-381.
- [31] Tomaszewska M.: Przyczyny strat i marnotrawstwa żywności. W: *Straty i marnotrawstwo żywności. Fakty, Polityka, Etyka*. Red. D. Kołożyn-Krajewska, B. Bilka, M. Tomaszewska. Wyd. SGGW, Warszawa 2022, ss.21-44.
- [32] Tomaszewska M., Bilka B., Kołożyn-Krajewska D.: The Influence of Selected Food Safety Practices of Consumers on Food Waste Due to Its Spoilage. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health*, 2022, 19, 13, #8144.
- [33] Walter P., Asioli D., Balcombe K.: Consumer food waste decisions in British and Thai consumers. A vignette approach. *Q Open*, 2023, 03, 1-21.
- [34] W jakie dni i w jakich sklepach Polacy robią zakupy? Jakie formaty ściągnęły klientów? [on line]. Dostęp w Internecie [06.10.2023]: www.wiadomoscihandlowe.pl/raporty-i-analzy-rynkowe/w-jakie-dni-i-w-jakich-sklepach-polacy-robia-zakupy-jakie-formaty-sciagnely-klientow-2405468.
- [35] WRAP, Research into Consumer Behaviour in Relation to Food Dates and Portion Sizes, United Kingdom. 2008

HOUSEHOLD SIZE AND DAY OF THE WEEK AND THE LEVEL OF WASTED FOOD

S u m m a r y

Background. Food waste occurs in the entire food chain, but to the greatest degree in households. For this reason, it is important to know both the causes of this unfavourable phenomenon and its scale in the area of consumption. The aim of the study was to determine the volume of wasted food in 500 households and per household, taking into account five product groups, and to examine the relationship between the

household size and consecutive days of the week on the mass of wasted food. The study was carried out in 2019 on a representative, nationwide random quota sample of 500 households, at respondents' homes, for seven consecutive days. It consisted of two modules: an interview conducted by an interviewer (the Computer-Assisted Personal Interviews method) and a paper diary in which a person designated in a given household recorded the amount of food wasted on each subsequent day.

Results and conclusions. Based on the study, it was found that in one week, an average of 3.9 kg of food was wasted in each household, of which over one-third of the average mass included inedible parts generated during food preparation. In an average household, fruit and vegetables were food products that were wasted during the week in the highest quantities, followed by bread and dairy products. It was found that in Polish households most food products and semifinished products were thrown away from a refrigerator and/or kitchen cupboards on Saturday. The dishes prepared at home and wasted to the highest degree were soups, which were disposed of mainly on Wednesday. More food was wasted in households with more than three people, compared to households with one and two people.

Key words: food waste, household, household size, day of the week, food waste scale 

GRAŻYNA BORTNOWSKA

EFFECTS OF COMPOSITION OF GLUTEN-FREE BINARY GELS ON THE RETENTION AND RELEASE OF AROMA COMPOUNDS

S u m m a r y

Background. Gluten-free binary gels (BGs) composed of polysaccharides and animal proteins appear to be food products of great practical importance due to the constantly increasing risk of coeliac disease. Moreover, understanding the factors influencing the stability of aroma compounds (ACs) is very important because consumer acceptance of food is mainly dependent on aroma. The objective of this research was to determine the thermodynamic and kinetic behavior of ACs in BGs prepared with starches varying in amylose content depending on the concentration of myofibrillar proteins (MPs). BGs were prepared with 8 % of waxy rice starch (WRS) or tapioca starch (TS) and MPs ranged from 2 to 12 %. BGs were aromatized with: 1-heptanol, nonanal, 2-butanone, ethyl acetate, s-(+)-carvone. The studies included measurements of: rheological properties of BGs, non-covalent interactions between myosin and ACs, retention and release of ACs and enthalpy of ACs vaporization (ΔH_{vap}).

Results and conclusions. The main non-covalent interactions between myosin and ACs were hydrogen bonds and hydrophobic interactions. Retention and release parameters, determined during refrigerated storage (12 days) were statistically significantly ($p \leq 0.05$) dependent on: starch type, MPs concentration and physicochemical properties of ACs. The ACs release rate constants were statistically significantly ($p \leq 0.05$) correlated with those of rheological parameters derived from first order kinetic equation. ΔH_{vap} values found in TS-based BGs were generally lower ($p \leq 0.05$) than in counterparts prepared using WRS. BGs with a relatively high protein content can be intended for direct consumption and as subsystems for other food products to increase ACs stability.

Key words: binary gels, aroma, interactions, retention and release, vaporization enthalpy

Introduction

Gluten-free binary gels (BGs) composed of polysaccharides and animal proteins seem to be very promising food products due to the constantly increasing number of coeliac disease cases [13, 26]. Among the polysaccharides, the most noteworthy is

Prof. dr hab. inż. G. Bortnowska ORCID: 0000-0003-0537-6800, Katedra Technologii Rybnej, Roślinnej i Gastronomicznej, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin.

Kontakt: Grazyna.Bortnowska@zut.edu.pl

starch, which is a biodegradable, inexpensive biopolymer and has been widely used as a functional ingredient of many food products. At the molecular level, starch mainly consists of linear amylose (AM) and highly branched amylopectin (AP) and the AM/AP ratio affects the rheological properties of starch-based gels [27]. Myofibrillar proteins (MPs) are the main component of muscle proteins, accounting for 55 ÷ 65 % of total muscle proteins. Myosin is the most abundant and asymmetric molecule of MPs, with two heavy polypeptide chains and four light polypeptide chains, mainly responsible for gelation in meat proteins [9].

Aroma is considered a key ingredient improving the organoleptic properties of food and increasing its acceptability by consumers [15]. Therefore, scientists take inspiration from manufacturers to increase the stability of aroma compounds (ACs) in food products. Both thermodynamic and kinetic mechanisms influence the retention and release of ACs into the headspace. The thermodynamic parameter is related to the air/matrix partition coefficient, determined under equilibrium conditions, while the kinetic parameter characterizes the rate of ACs release from the matrix [5, 19]. The ACs that can be found in food can be classified as: hydrocarbons, aldehydes, ketones, alcohols, esters, terpenes, sulfur compounds and others [4]. They are at least moderately lipophilic and therefore the lack of lipids in BGs may negatively impact the stability of ACs in food systems. It seems that a certain solution in this regard may be the increased addition of biopolymers that reversibly interact with ACs [7]. ACs form chemical and physical bonds with carbohydrates, but proteins play a key role because strong ACs binding minimizes their release [15]. Therefore, it can be hypothesized that by manipulating the type and concentration of the biopolymer, it would be possible to differentiate the rheological properties of BGs and the range of interactions with ACs belonging to different chemical classes, as well as to model their retention and release from food systems. In the light of this hypothesis, the aim of the study was to determine the thermodynamic and kinetic behavior of ACs in BGs prepared with starches varying in amylose content depending on the increasing concentration of MPs.

Materials and methods

Materials

Beef meat (*M. semimembranosus*) was purchased from a meat purveyor. Pregelatinized starches: tapioca starch, TS (19.2 % amylose) and waxy rice starch, WRS (96.8 % amylopectin) were donated by Ingredion GmbH (Hamburg, Germany). Aroma compounds (purity \geq 98 %): 1-heptanol, nonanal, 2-butanone, ethyl acetate, s-(+)-carvone) and other chemicals were purchased from Sigma-Aldrich (Poland). The physicochemical properties of ACs are presented in Table 1. Throughout this work, unless otherwise stated, the concentration is expressed in wt %.

Table 1. Physicochemical properties of aroma compounds
Tabela 1. Właściwości fizykochemiczne substancji zapachowych

	MW (g mol ⁻¹)	MV (cm ³ mol ⁻¹)	Log P	WSol* (g L ⁻¹)	BP (°C)	D* (g mL ⁻¹)	OD
HAL	116.2	141.4	2.62	1.25	176	0.821	aromatic / aromatyczny
NAL	142.2	172.4	3.27	0.09	195	0.826	floral / kwiatowy
BAE	72.11	89.62	0.29	136	79.6	0.805	fruit / owocowy
EAE	88.11	97.81	0.73	64.1	77.1	0.902	pineapple / ananasowy
CVE	150.2	156.3	3.07	1.31	231	0.962	spice / przyprawowy

Explanations / Objaśnienia:

(1) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE). (2) Physicochemical and sensory properties of aroma compounds: molecular weight (MW), molar volume (MV), hydrophobicity (Log P), water solubility (WSol), boiling point (BP, 760 mm Hg), density (D), and odor descriptor (OD). (3) Data retrieved from database <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> and <http://www.chemicalbook.com>

* Values determined at 25 °C.

(1) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE). (2) Właściwości fizykochemiczne i sensoryczne substancji zapachowych: masa cząsteczkowa (MW), objętość molowa (MV), hydrofobowość (Log P), rozpuszczalność w wodzie (WSol), temperatura wrzenia (BP, 760 mm Hg), gęstość (D) i deskryptor zapachu (OD). (3) Dane pobrane z bazy danych <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> and <http://www.chemicalbook.com>

* Wartości wyznaczone w 25 °C.

Methods

Fluorescence spectroscopy, determination of Stern-Volmer quenching constants, binding and thermodynamic parameters of ACs-myosin (MYO) interactions

The research was carried out using procedures described by Bortnowska [5], with a slight modification. MYO solution (0.75 mg mL⁻¹) was prepared by dissolving the protein in a phosphate buffer solution (20 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄, 0.6 M NaCl, pH 7.0) and stored at 4 °C before use. The ACs were added separately to the vials containing MYO solution to obtain final concentrations of $2 \div 12 \times 10^{-5}$ M, and then capped immediately. The control sample contained only MYO solution. All the samples were stored (periodically shaken) at temperatures: 35, 45, 55 and 65 °C, and the time of 12 h was sufficient to reach equilibrium for each aroma compound. Fluorescence emission spectra were recorded from 300 to 500 nm after excitation at 280 nm with a LS-55 fluorescence spectrometer (Perkin Elmer, Waltham, USA). The slit widths were 5 nm for both excitation and emission. The fluorescence quenching mechanism induced by

ACs was determined according to Stern-Volmer equation: $F_0/F = 1 + K_{SV}[Q] = 1 + K_q\tau_0[Q]$, where: F_0 and F , are the fluorescence intensity in the absence and presence of quencher; K_{SV} , Stern-Volmer quenching constant; $[Q]$, aroma compound (AC) concentration; $K_q = K_{SV}/\tau_0$, bimolecular quenching rate constant and $\tau_0 = 10^{-8}$ s, average lifetime of the biomolecule without quencher. The binding constant (K_b) and number of binding sites (n_b) associated with the ACs-MYO interactions were calculated from the relationship: $\log [(F_0 - F)/F] = \log K_b + n_b \log [Q]$. Thermodynamic parameters, related to changes: enthalpy (ΔH), entropy (ΔS) and Gibb's free energy (ΔG) after ACs binding, were determined from the equations: $\ln K_b = -\Delta H/RT + \Delta S/R$ and $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, respectively, where: R , gas constant ($J mol^{-1} K^{-1}$) and T , temperature (K).

Gluten-free binary gels (BGs) preparation

BGs were manufactured using the procedures of Bortnowska [6], with modification. The MPs were dissolved in 50 mM sodium phosphate buffer including 0.6 M NaCl (pH 6.2) to obtain experimentally required concentrations. Subsequently, WRS or TS were added and the suspensions were mixed together to prepare samples composed of 8 % starch (WRS or TS) and MPs ranging from 2 to 12 %. During the mixing, 0.1 % potassium sorbate was added. Subsequently, the mixtures were pasteurized by heating ($5\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) in a water bath to $90\text{ }^\circ\text{C}$, kept at this temperature for 10 min, rapidly cooled to $5\text{ }^\circ\text{C}$ with an ice-water mixture and homogenized for 20 s at 14,000 rpm. Subsequently, the ACs (HAL, NAL, BAE, EAE, CVE) were added separately, each at a concentration of 600 mg L^{-1} . The BGs were stored at $5\text{ }^\circ\text{C}$ for 6 h and then used for further analyses.

Physicochemical properties measurements

The physicochemical properties of the BGs during 12 days of refrigerated ($5\text{ }^\circ\text{C}$) storage (RST) were determined following the general procedures reported previously [6]. For the determination of water holding capacity (WHC), the gel samples (M_1) were centrifuged (2400 g, 15 min) and reweighed (M_2). WHC was calculated from the equation; $WHC (\%) = M_2/M_1 \times 100$. The rheological properties of the BGs were determined using a strain/stress controlled AR-G2 rheometer (TA Instruments, New Castle, DE, USA), equipped with a cone-plate geometry (cone angle 2° , diameter 60 mm, gap $62\text{ }\mu\text{m}$). Flow curves were obtained at shear rates ($\dot{\gamma}$) in the range of $0.01\text{-}100\text{ s}^{-1}$ and the data obtained was fitted to the Herschel-Bulkley model: $\tau = \tau_0 + k\dot{\gamma}^n$, where: τ , shear stress (Pa); τ_0 , yield stress (Pa); k , consistency index (Pa s^n); and n , flow behavior index (-). Frequency sweep tests were carried out at a frequency of $0.01\text{-}100\text{ Hz}$ with 0.1 % fixed strain and: storage modulus (G' , Pa), loss modulus (G'' , Pa) were recorded versus frequency (ω). The quality factor was derived from the relation: $Q = 2\pi (K'/K'')\omega^{(n'-n'')}$, where: K' , K'' , n' , n'' , coefficients derived from the equations: $G' = K'\omega^{n'}$, $G'' =$

$K''\omega^n$. The values of the determined parameters (P: k , τ_0 , Q) were fitted to the first order kinetic equation: $d[P]/dt = \pm k[P]$, and the appropriate rate constants: k_k , k_{τ_0} , k_Q (day^{-1}) were used for further calculations.

Surface hydrophobicity, chemical interactions, total sulfhydryl and free amino groups determination

The surface hydrophobicity (S_0) of MPs was determined using 8-anilino-1-naphthalenesulfonate (ANS), as described by Deng et al. [10], with a slight modification. Fluorescence intensity (FI) was measured using a LS-55 fluorescence spectrometer (Perkin Elmer, Waltham, USA) at 374 nm (excitation) and 485 nm (emission), with excitation and emission slits set at 5 nm. S_0 was determined as the slope of the plot of FI against MPs concentration ($0.05 \div 0.35$ mg/mL). The chemical interactions of the MPs were calculated using the method described by Zhou et al. [29]. The soluble protein contents were measured by the Kjeldahl method to quantify: ionic bonds (IB), hydrogen bonds (HB), hydrophobic interactions (HI) and disulfide bonds (DB). Total sulfhydryl ($-\text{SH}$) groups (TSG) content was determined as described by Diao et al. [11] applying 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The absorbance was measured at 412 nm and the TSG content (nm mg^{-1} protein) was calculated using a molar extinction coefficient of $13,600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The free amino ($-\text{NH}_2$) groups (FAG, nmol mg^{-1} protein) were quantified according to Cao & Xiong [8], with the use of 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). Absorbance was measured at 420 nm and the FAG content was assessed from the calibration curve produced with L-leucine.

Static headspace gas chromatography-mass spectrometry (SH-GC-MS)

SH-GC analyses were performed on an AutoSystem XL gas chromatograph (Perkin-Elmer, Switzerland), following the previously published procedures by Bortnowska [5], with a slight modification. Headspace vials (22.3 mL) were filled with 5 ± 0.01 mL of BGs, immediately closed and incubated in an ST1/B/60 incubator (Pol-Eko-Aparatura, Poland). A time of 6 h was sufficient to reach equilibrium for each aroma compound, regardless of sample composition. Headspace vials containing BGs were placed into Perkin-Elmer TurboMatrix 16 autosampler, kept at experimentally required temperature and then the headspace sample of 1 mL was automatically withdrawn and injected with splitless mode into a PE-5MS capillary column (30 m \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness) in GC. Helium (purity $> 99.99\%$) was used as carrier gas at a flow of 1.1 mL min^{-1} . The temperature of the column oven was initially set to 60°C , subsequently increased to 220°C with a rate of $15^\circ\text{C min}^{-1}$. The quadrupole-type mass spectrometer (MS, TurboMass) operated in the electron impact mode with an electron energy of 70 eV, collecting data at a rate of 1 scan s^{-1} . Blank samples (without ACs) were analyzed to determine whether additional volatiles were formed

during processing and storage. The ACs were identified by comparing the obtained mass spectra and retention indices with those of authentic standards. To quantify the amount of volatiles in the headspace, five ACs calibration curves were plotted using the peak areas obtained from the GC analysis against known concentrations of each volatile.

Retention, release kinetics and half-life of ACs release

The retention and release kinetics of the ACs were tested using the following procedures. Aliquots (400 mL) of each BG were transferred to open 800 mL glass beakers and stored in a refrigerated container at constant temperature (5 °C, darkness) for 12 days. At fixed time intervals, the retained quantities of the ACs were recorded at equilibrium conditions and retention values (R) were calculated from the equation: $R = M_t/M_{t=0}$, where: $M_{t=0}$ and M_t , initial and determined at the fixed times quantities of the ACs, correspondently. The release kinetics of the ACs from BGs was computed, applying the Avrami's equation: $R = \exp[-(k_r t)^{n_r}]$, where: k_r , release rate constant; n_r , release mechanism. The half-life (HL) of ACs release from the BGs was calculated using the relation: $HL = [(-\ln 0.5)^{1/n_r}]/k_r$.

Thermodynamic study of ACs release

Thermodynamic parameters: gas-binary gel (BG) partition coefficient (k_i) and enthalpy of vaporization (ΔH_{vap}) were determined according to Bortnowska [5]. The k_i values were calculated under conditions of thermodynamic equilibrium at temperatures: 5, 10, 15 and 20 °C. The concentration of aroma compound (AC) in BG was determined by subtracting the quantity of AC in the headspace from the amount of AC originally added. ΔH_{vap} (kJ mol^{-1}) was calculated using van't Hoff equation: $\ln k_i/dT = \Delta H_{\text{vap}}/RT^2$.

Statistical analysis

All the experiments were performed in triplicate. Significant differences between means ($p \leq 0.05$) were confirmed by a one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's multiple comparisons. A two-way analysis of variance was used to examine the effects of two variables (factors), both individually and together, on the experimental response. In order to determine the relationship between the studied variables, Pearson correlations were performed. Statistical analyses were carried out using Statistica 8.0 software (StatSoft Inc., USA).

Results and discussion

Surface hydrophobicity and chemical interactions of myofibrillar proteins (MPs)

The values of surface hydrophobicity and chemical interactions of MPs are presented in Table 2. In both sets of samples tested (WRS-based BGs, TS-based BGs) the values of: S_o , IB, HB, HI and DB were positively correlated with the increase in MPs concentration ($r \geq 0.961$; $p \leq 0.01$) and according to ANOVA were mostly dependent on MPs concentration ($F \geq 4.92$, $p \leq 0.01$). Generally, the upward trend in the values of the tested parameters can be considered in terms of the shorter average distance between protein molecules and a possibly larger number of components available for the interactions [16, 25]. Additionally, hydrophobic amino acids were probably exposed during temperature treatment (pasteurization), which contributed to the increase in S_o and HI [21].

Table 2. Surface hydrophobicity and chemical interactions (mg mL^{-1}) of myofibrillar proteins

Tabela 2. Hydrofobowość powierzchniowa i interakcje chemiczne (mg mL^{-1}) białek miofibrilarnych

Waxy rice starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi ryżowej woskowej						Tapioca starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi tapiokowej					
Myofibrillar proteins concentration (%) / Stężenie białek miofibrilarnych (%)											
2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
Surface hydrophobicity / Hydrofobowość powierzchniowa											
276 ^a	309 ^b	348 ^c	371 ^e	382 ^f	396 ^f	312 ^b	378 ^d	384 ^e	402 ^g	416 ^h	423 ^h
Ionic bonds / Wiązania jonowe											
0.14 ^b	0.16 ^c	0.21 ^e	0.25 ^f	0.27 ^g	0.29 ^g	0.12 ^a	0.13 ^a	0.16 ^c	0.18 ^d	0.19 ^d	0.21 ^e
Hydrogen bonds / Wiązania wodorowe											
0.37 ^b	0.52 ^d	0.58 ^e	0.65 ^f	0.71 ^g	0.74 ^g	0.28 ^a	0.39 ^b	0.48 ^c	0.56 ^d	0.58 ^e	0.62 ^f
Hydrophobic interactions / Oddziaływania hydrofobowe											
2.42 ^a	2.53 ^a	2.84 ^b	3.16 ^c	3.28 ^d	3.45 ^e	3.09 ^c	3.28 ^d	3.45 ^e	3.61 ^f	3.73 ^f	3.91 ^g
Disulfide bonds / Wiązania disiarczkowe											
2.75 ^a	2.81 ^b	2.95 ^b	3.21 ^d	3.49 ^e	3.67 ^e	3.07 ^c	3.26 ^d	3.58 ^e	3.71 ^f	3.95 ^f	4.16 ^g

Explanations / objaśnienia:

Within the rows, mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

W obrębie wierszy wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0.05$).

Water holding capacity (WHC) and rheological properties of binary gels (BGs)

The values of water holding capacity (WHC) and rheological properties of BGs are demonstrated in Table 3. The values of: WHC, τ_0 , k and Q parameters were correlated positively with the increase in MPs concentration ($r \geq 0.949$; $p \leq 0.01$), and n negatively ($r \leq -0.949$; $p \leq 0.01$). Moreover, ANOVA revealed a high dependence on

the starch type (ST) and concentration of MPs ($F \geq 4.52$ $p \leq 0.01$). The results showed that all the studied BGs exhibited non-Newtonian shear-thinning behavior, and the n values were much less than 0.5, indicating strong pseudoplasticity [12]. The determined values of τ_0 , k and Q were well correlated ($r \geq 0.957$; $p \leq 0.01$) with binding MPs parameters (Table 2), which may suggest the development of a three-dimensional network, and consequently, higher values of the tested rheological parameters [25]. Greater values of the: τ_0 , k and Q , found in TS-based BGs, than in the case of WRS-based BGs, may be related to the fact that during the cooling process a large amount of amylose dispersed in hot gelatinized starch may favor the formation of intra- and intermolecular hydrophobic interactions and hydrogen bonds between the starch chains, creating a new crystallized network of hard gel [17].

Table 3. Water holding capacity and rheological properties of binary gels (5 °C)

Tabela 3. Wodochłonność i właściwości reologiczne żeli binarnych (5 °C)

Waxy rice starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi ryżowej woskowej						Tapioca starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi tapiokowej					
Myofibrillar proteins concentration (%) / Stężenie białek miofibrylarnych (%)											
2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
Water holding capacity, WHC (%) / Wodochłonność, WHC (%)											
84.2 ^b	89.3 ^c	94.7 ^d	98.4 ^e	100 ^f	100 ^f	79.6 ^a	83.5 ^b	89.6 ^c	96.8 ^e	98.7 ^e	100 ^f
Yield stress, τ_0 (Pa) / Granica płynięcia, τ_0 (Pa)											
0.47 ^a	0.72 ^b	1.07 ^c	1.52 ^e	2.49 ^g	3.26 ^h	0.49 ^a	0.87 ^b	1.34 ^d	1.89 ^f	3.51 ⁱ	4.83 ^j
Consistency index, k (Pa s ⁿ) / Indeks konsystencji, k (Pa s ⁿ)											
2.08 ^a	2.79 ^b	4.02 ^d	5.13 ^f	7.16 ^h	8.93 ⁱ	2.14 ^a	3.31 ^c	4.65 ^e	6.07 ^g	9.51 ^j	11.6 ^k
Flow behavior index, n (-) / Wskaźnik płynięcia, n (-)											
0.33 ^d	0.31 ^d	0.29 ^c	0.27 ^b	0.25 ^b	0.23 ^a	0.32 ^d	0.29 ^c	0.28 ^c	0.26 ^b	0.22 ^a	0.19 ^a
Quality factor, Q (-) / Współczynnik jakości, Q (-)											
12.7 ^a	15.9 ^b	20.1 ^d	22.6 ^d	26.1 ^e	28.7 ^g	17.4 ^c	21.6 ^d	27.4 ^f	29.6 ^g	33.2 ^h	36.7 ⁱ

Explanations / objaśnienia:

Within the rows, mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

W obrębie wierszy wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0,05$).

Stern-Volmer quenching constants, binding and thermodynamic parameters for aroma compounds (ACs) – myosin (MYO) interactions

Fluorescence test results are shown in Table 4. In all the studied BGs, a decrease in fluorescence intensity with increasing ACs concentration was observed (data not shown). The parameters of Stern-Volmer equation (K_{sv} , K_q) were positively correlated ($r \geq 0.794$; $p \leq 0.05$) with the increase in temperature, which may suggest that binding

of the ACs to MYO was an endothermic process and tended to stronger MYO-ACs interactions [3, 18].

Table 4. Stern-Volmer quenching constants, binding and thermodynamic parameters of aroma compounds-myosin interactions

Tabela 4. Stałe wygaszania Sterna-Volmera i parametry termodynamiczne dla interakcji substancji zapachowych z miozyną

	T (K)	Stern-Volmer quenching constants / Stałe wygaszania Sterna-Volmera		Binding param- eters / Parametry wiąza- nia		Thermodynamic parameters / Parametry termodynamicz- ne		
		K_{sv} ($\times 10^{-4}$ L mol $^{-1}$)	K_q ($\times 10^{-12}$ L mol $^{-1}$ s $^{-1}$)	K_b ($\times 10^{-5}$ L mol $^{-1}$)	n_b (-)	ΔG (kJ mol $^{-1}$)	ΔH (kJ mol $^{-1}$)	ΔS (J mol $^{-1}$ K $^{-1}$)
HAL	308	3.24	3.24	5.57	1.34	-33.9	-39.7	-18.9
	318	6.03	6.03	3.61	1.21	-33.8		
	328	5.57	5.57	2.23	1.16	-33.5		
	338	6.39	6.39	1.42	1.09	-33.2		
NAL	308	2.80	2.80	1.27	1.17	-30.1	36.9	218
	318	4.39	4.39	2.11	1.18	-32.4		
	328	5.98	5.98	3.32	1.19	-34.7		
	338	6.87	6.87	4.47	1.21	-35.6		
BAE	308	2.48	2.48	1.08	1.16	-29.7	34.1	207
	318	4.25	4.25	1.93	1.17	-32.3		
	328	5.91	5.91	2.82	1.18	-34.2		
	338	6.57	6.57	3.46	1.21	-35.8		
EAE	308	2.89	2.89	3.78	1.29	-32.9	-37.1	-13.4
	318	5.13	5.13	2.41	1.18	-32.8		
	328	5.82	5.82	1.59	1.12	-32.6		
	338	5.89	5.89	1.06	1.08	-32.5		
CVE	308	3.04	3.04	2.59	1.24	-31.9	38.7	229
	318	4.72	4.72	4.03	1.25	-34.1		
	328	6.49	6.49	6.64	1.27	-36.5		
	338	7.05	7.05	9.76	1.31	-38.7		

Explanations / objaśnienia:

(1) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE). (2) Quenching constant (K_{sv}), quenching rate constant (K_q), binding constant (K_b), number of binding sites (n_b), changes: Gibb's free energy (ΔG), enthalpy (ΔH), entropy (ΔS).

(1) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE). (2) Stała wygaszania (K_{sv}), stała szybkości wygaszania (K_q), stała wiązania (K_b), liczba miejsc wiązania (n_b), zmiany: energii swobodnej Gibbsa (ΔG), entalpii (ΔH), entropii (ΔS).

The K_q values ranged from 2.48 to $7.05 \times 10^{12} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ and were larger than the maximum scatter collision quenching constant ($2.0 \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$), which indicates that fluorescence quenching had a static mechanism [5]. The K_b and n_b parameters of EAE and HAL were negatively correlated ($r \leq -0.972$; $p \leq 0.05$) with the increase in temperature and those of: NAL, BAE, CVE positively ($r \geq 0.959$; $p \leq 0.05$). The decrease of K_b can be interpreted in terms that EAE and HAL had non-flexible structure, therefore do not fit properly in the protein's cavity and thus, not bind correctly on the protein's surface [15]. Opposite properties most probably exhibited: NAL, BAE and CVE. The values of n_b were higher than 1, suggesting that more than one molecule of the ACs were bound on the MYO surface near the troponin residues [3]. In all the studied samples the ΔG values were negative, pointing out that the ACs-MYO interactions were spontaneous. Moreover, negative ΔG values in relation to EAE and HAL decreased with increasing temperature, while in the case of: NAL, BAE and CVE they increased, and these changes had the same trend as K_b and n_b . This can be interpreted that the ACs-MYO complexes become less and more stable with increasing temperature, respectively [5].

Retention and release of aroma compounds

Aroma compounds (ACs) retention during refrigerated storage (RST, 5 °C, 12 days) in the BGs was determined under equilibrium conditions, which made it possible to assess the impact of all factors on the stability of the ACs in the system. Changes in retention values (RVs) of selected samples are shown in Figure 1 A-D.

The RVs demonstrated a descending trend with increasing RST, clearly dependent on an AC type and the composition of the BGs, particularly, the starch type. The percentage of the ACs retained in the samples after 12 days of RST in relation to: HAL, NAL, BAE, EAE and CVE was as follows: WRS-based BGs, 2 % MPs (49.1, 54.3, 51.2, 44.1 and 59.3 %); WRS-based BGs, 12 % MPs (62.3, 74.1, 68.2, 55.4 and 78.1 %); TS-based BGs, 2 % MPs (58.1, 66.3, 55.1, 47.4 and 63.1 %); TS-based BGs, 12 % MPs (68.2, 83.1, 72.5, 62.1 and 78.4 %). Moreover, comparing the samples containing 12 and 2 % MPs, the RVs were greater by: WRS-based BGs (21.2, 27.1, 25.3, 20.4 and 24.5 %); TS-based BGs (14.7, 20.5, 23.6, 24.2 and 19.3 %). The RVs found after 12 days of refrigerated storage in relation to myofibrillar proteins concentration are presented in Fig. 2A and B. In general, the RVs of ACs were bigger ($p \leq 0.05$) in TS-based BGs than in the corresponding ones prepared with WRS. Moreover, regardless of ST, an increasing concentration of MPs contributed to increased retention ($r \geq 0.908$; $p \leq 0.05$). The effect of biopolymers on the RVs also depended on the type of aroma compound (AC). In the BGs aromatized with HAL and NAL, the RVs were

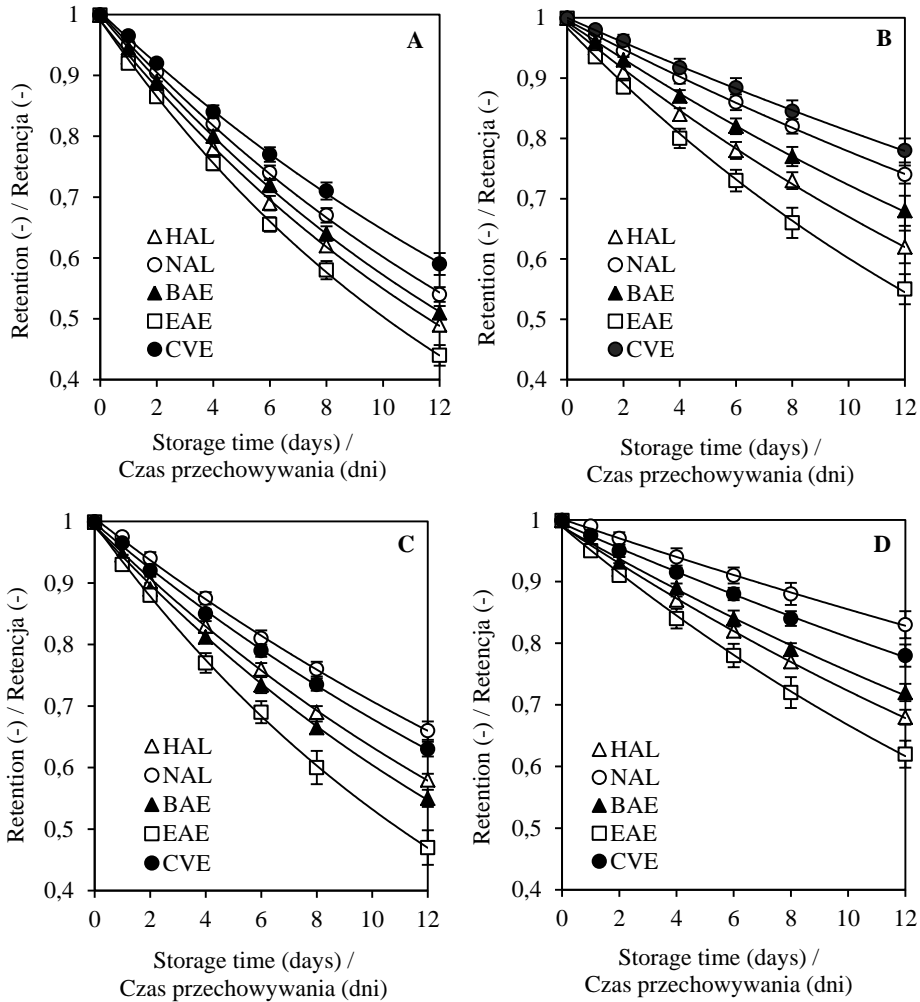


Fig. 1. Retention of aroma compounds in relation to refrigerated storage time (5 °C) in binary gels made with: 8 % waxy rice starch and 2 % myofibrillar proteins (A), 8 % waxy rice starch and 12 % myofibrillar proteins (B), 8 % tapioca starch and 2 % myofibrillar proteins (C), 8 % tapioca starch and 12 % myofibrillar proteins (D).

Rys. 1. Retencja substancji zapachowych w zależności od czasu chłodniczego przechowywania (5°C) w żelach binarnych przygotowanych z użyciem: 8 % skrobi ryżowej woskowej i 2 % białek miofibrylarnych (A), 8 % skrobi ryżowej woskowej i 12 % białek miofibrylarnych (B), 8 % skrobi tapiokowej i 2 % białek miofibrylarnych (C), 8 % skrobi tapiokowej i 12 % białek miofibrylarnych (D).

Explanations / Objasnienia:

Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE).

Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE).

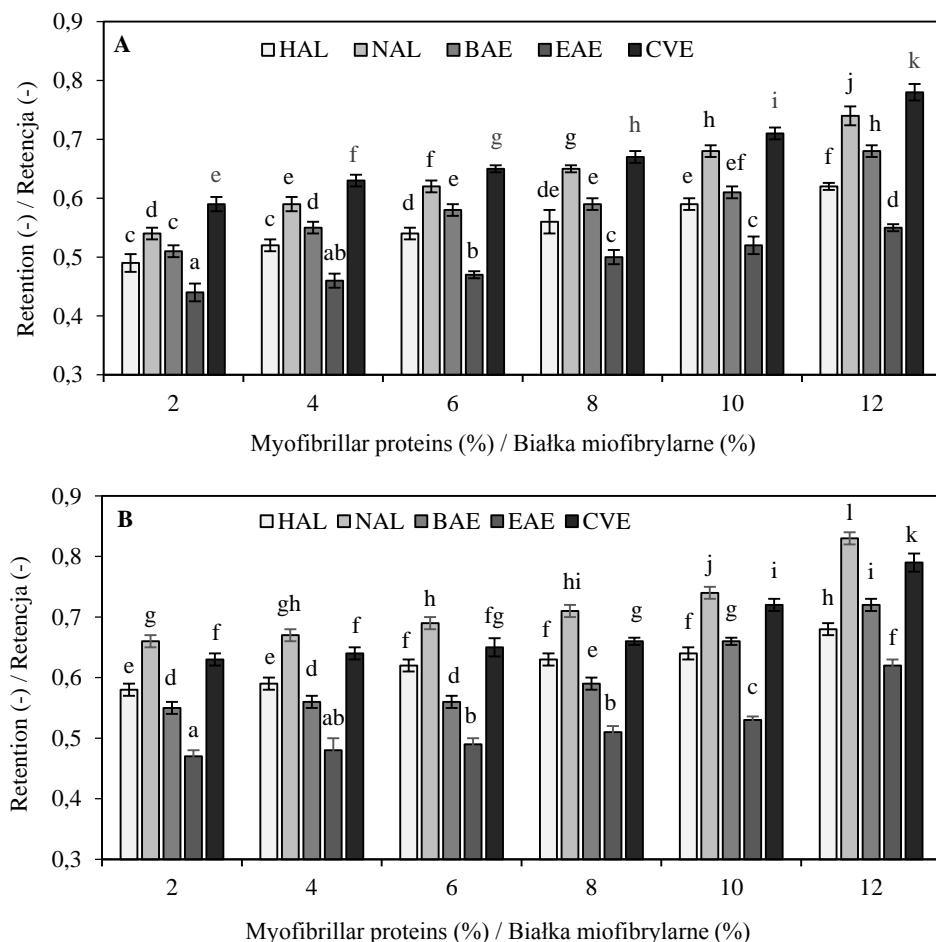


Fig. 2. Retention of aroma compounds after 12 days of refrigerated storage time (5 °C) in waxy rice starch - based binary gels (A) and tapioca starch - based binary gels (B), depending on the concentration of myofibrillar proteins.

Rys. 2. Retencja substancji zapachowych po 12 dniach chłodniczego przechowywania (5 °C) w żelach binarnych na bazie skrobi ryżowej woskowej (A) lub skrobi tapiokowej (B), w zależności od stężenia białek miofibrylarnych.

Explanations / Objasnienia:

(1) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE). (2) Mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

(1) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE). (2) Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0,05$).

mostly affected by ST ($F \geq 12.3$; $p \leq 0.01$). Whereas in those containing: BAE, EAE, CVE, a greater effect of MPs concentration was observed than ST ($F \geq 4.81$; $p \leq 0.01$).

In complex systems such as BGs, the RVs determined under equilibrium conditions can be related to many factors. The first reason can be attributed to the non-covalent interactions between ACs and proteins. The results, determined by spectrofluorometric assay, are suggesting: hydrophobic interactions (NAL, BAE, CVE) and hydrogen bonding (EAE, HAL). The second reason can be considered in terms of the formation covalent interactions, as detected by changes in the total content of sulfhydryl ($-SH$) groups (TSG) and free amino ($-NH_2$) groups (FAG), which decreased ($r \leq -0.983$; $p < 0.01$) with increasing RST.

For example, in WRS-based BGs containing 12 % MPs, after 12 days of RST, the TSH values changed from 49.8 nmol mg^{-1} protein (freshly prepared sample) to: 43.2 (EAE), 35.7 (NAL), 38.2 (BAE), 44.4 (HAL) and 37.4 (CVE) nmol mg^{-1} protein. Whereas FAG changed from 78.6 nmol mg^{-1} protein (freshly prepared sample) to: 67.2 (EAE), 52.4 (NAL), 55.7 (BAE), 67.4 (HAL) and 54.6 (CVE) nmol mg^{-1} protein (data not shown). Thus, it is possible to suppose that relatively high RVs found in BGs aromatized with: NAL, BAE and CVE, may be considered the effect of ketones (BAE, CVE) and aldehyde (NAL) covalent binding with amino acids-reactive groups: $-NH_2$ or $-SH$ and the formation of Schiff bases or thioketals and thioacetals [2, 15]. Moreover, the trapping in the complex gel network as a combined effect of starch and MPs should be considered as well [14]. It should be noted here that although covalent interactions increase the retention of ACs in the system, they also reduce their sensory availability. Therefore, a large range of covalent interactions of ACs with the components of the system is rather undesirable.

The release kinetics of the ACs from the BGs was studied during 12 days of refrigerated storage (RST, 5 °C) in relation to ST (WRS-based BGs, TS-based BGs) and MPs concentration. The data measured during RST were modelled using the Avrami's equation and thus determined release parameters (release rate constant, k_r ; release mechanism, n_r) and half-lives of ACs (HLs) are demonstrated in Table 5. Irrespectively of the ST used (WRS-based BGs, TS-based BGs), k_r and n_r values demonstrated downward trends and were negatively correlated ($r \leq -0.947$; $p \leq 0.01$) with increasing MPs concentration. Moreover, ANOVA revealed that the MPs concentration had the greatest influence on the tested release parameters. The values of HLs were positively correlated with the increase in MPs concentration ($r \geq 0.849$; $p \leq 0.05$) and, according to ANOVA, predominantly affected by MPs content ($F \geq 9.13$; $p \leq 0.001$). In comparison to samples prepared with 2 % MPs, the k_r values in BGs containing 12 % MPs were smaller by: WRS-based BGs (HAL, 67.6 %; NAL, 71.7 %; BAE, 70.5 %; EAE, 55.3 %; CVE, 67.4 %); TS-based BGs (HAL, 71.9 %; NAL, 67.2 %; BAE, 79.7 %; EAE, 67.3 %; CVE, 66.8 %).

Table 5. Parameters of Avrami's equation and half-lives of aroma compounds in binary gels, depending on starch type and myofibrillar proteins concentration

Tabela 5. Parametry równania Avramiego i okresy półtrwania substancji zapachowych w żelach binarnych, w zależności od rodzaju skrobi i stężenia białek miofibrilarnych

	Waxy rice starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi ryżowej woskowej						Tapioca starch - based binary gels / Żele binarne na bazie skrobi tapiokowej					
	Myofibrillar proteins concentration (%) / Stężenie białek miofibrilarnych (%)											
	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
Release rate constant, $k_r \times 10^3$ (day ⁻¹) / stała szybkości uwalniania, $k_r \times 10^3$ (dzień ⁻¹)												
HAL	42.9 ^k	33.1 ^j	30.2 ⁱ	22.1 ^g	18.2 ^e	13.9 ^c	30.1 ⁱ	26.7 ^h	20.4 ^f	15.6 ^d	11.9 ^b	8.46 ^a
NAL	20.5 ^h	15.1 ^g	13.4 ^f	9.92 ^e	7.13 ^c	5.81 ^b	15.6 ^g	10.5 ^e	8.93 ^d	7.24 ^c	5.51 ^b	5.12 ^a
BAE	34.2 ⁱ	29.2 ^h	24.4 ^g	17.0 ^d	13.3 ^c	10.1 ^b	29.4 ^h	23.9 ^f	21.7 ^e	15.3 ^c	9.51 ^a	5.93 ^a
EAE	56.1 ^l	51.2 ^k	46.3 ^j	39.9 ^h	34.5 ^e	25.1 ^b	46.2 ^j	43.8 ⁱ	37.2 ^g	32.3 ^d	27.9 ^c	15.1 ^a
CVE	18.2 ⁱ	13.5 ^g	11.7 ^f	8.42 ^d	7.74 ^c	5.92 ^b	15.7 ^h	14.2 ^g	10.2 ^e	5.71 ^b	5.23 ^a	5.21 ^a
Release mechanism, n_r (-) / Mechanizm uwalniania, n_r (-)												
HAL	0.73 ^d	0.72 ^d	0.69 ^c	0.65 ^b	0.63 ^b	0.61 ^a	0.72 ^d	0.71 ^d	0.67 ^c	0.63 ^b	0.59 ^a	0.58 ^a
NAL	0.64 ^d	0.63 ^d	0.61 ^c	0.59 ^c	0.57 ^c	0.54 ^b	0.63 ^d	0.61 ^c	0.58 ^c	0.55 ^b	0.52 ^a	0.49 ^a
BAE	0.71 ^d	0.71 ^d	0.68 ^c	0.63 ^b	0.61 ^a	0.59 ^a	0.69 ^c	0.67 ^c	0.64 ^b	0.61 ^a	0.58 ^a	0.56 ^a
EAE	0.76 ^c	0.75 ^d	0.73 ^d	0.71 ^c	0.69 ^c	0.65 ^b	0.74 ^d	0.72 ^c	0.69 ^c	0.67 ^b	0.65 ^b	0.62 ^a
CVE	0.66 ^c	0.65 ^c	0.64 ^c	0.61 ^b	0.59 ^b	0.57 ^b	0.65 ^c	0.64 ^c	0.61 ^b	0.54 ^a	0.53 ^a	0.51 ^a
Half-live, HL (days) / Okres półtrwania, HL (dni)												
HAL	14.1 ^a	17.9 ^b	19.6 ^c	25.8 ^d	31.0 ^e	39.4 ^f	20.3 ^c	22.2 ^c	28.3 ^d	35.7 ^e	45.0 ^g	63.5 ^h
NAL	27.5 ^a	37.1 ^b	42.1 ^b	54.4 ^c	74.1 ^d	87.3 ^e	35.8 ^b	52.4 ^c	59.6 ^c	70.9 ^d	90.6 ^e	95.4 ^f
BAE	17.6 ^a	20.4 ^b	23.9 ^b	32.8 ^c	41.4 ^d	53.1 ^e	20.3 ^b	24.2 ^b	26.1 ^c	35.5 ^d	56.2 ^e	87.7 ^f
EAE	11.1 ^a	12.3 ^a	13.2 ^a	14.9 ^b	17.1 ^c	22.7 ^d	13.2 ^a	13.7 ^a	15.8 ^b	17.9 ^c	20.4 ^d	36.8 ^e
CVE	31.6 ^a	42.4 ^b	48.3 ^c	65.6 ^d	69.6 ^d	89.8 ^e	36.3 ^b	39.8 ^b	54.1 ^c	88.7 ^e	96.8 ^f	97.5 ^f

Explanations / objaśnienia:

(1) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE). (2) Within the rows, mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

(1) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE). (2) W obrębie wierszy wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0,05$).

Generally, ACs release is affected by a number of their parameters like: hydrophobicity, water solubility and volatility, which are usually connected to the volatiles structural properties, concerning: chain length, branching and the presence and position of a functional groups [28]. Moreover, the rheological properties of the BGs had a significant impact on the kinetics of ACs release. For example, it was found that an increase in the MPs concentration corresponded to an increase in the consistency index (Table 3) of the system and a decrease in the k_r values (Table 5), which is essentially

consistent with the relationships presented in the Wilke-Chang equation [5, 22]. The k_r values are expressing changes of RVs during RST and these were well correlated ($r \geq 0.823$; $p \leq 0.05$) with rate constants: k_k , k_{τ_0} , k_Q , related to changes during RST of: k , τ_0 and Q , respectively.

Thermodynamic studies

Under strictly defined measurement conditions, the values of partition coefficient (k_i) determined at equilibrium, reflect the impact of the entire system in terms of: composition, intermolecular interactions, physicochemical properties of the system and others on the process of ACs release to the headspace [5]. The k_i values were measured at temperatures ranging from 5 to 20 °C, and those found at 20 °C are presented in Fig. 3A and B. In both studied sets of samples, an increase in MPs concentration resulted in a decrease in k_i values ($r \leq -0.879$; $p \leq 0.05$). ANOVA revealed with respect to samples aromatized with HAL and NAL that ST predominantly affected k_i ($F \geq 8.16$; $p \leq 0.01$), whereas in the BGs containing: BAE, EAE and CVE, the k_i values were mainly affected by MPs content ($F \geq 15.4$; $p \leq 0.001$). This may suggest that apart from interactions of the ACs with biopolymers that are specified above, HAL and NAL interacted with amylose helices either inside the hydrophobic cavity of the helix or between the free space of the helices [20, 23].

Increasing temperature (5-20 °C) contributed to greater values of k_i and their changes in WRS-based BGs and TS-based BGs containing 12 % MPs are presented in Figure 4A and B, respectively.

The studies have shown that the k_i values were positively correlated ($r \geq 0.995$; $p \leq 0.01$) with temperature increasing from 5 to 20 °C and those detected at 20 °C in comparison to those found at 5 °C, for HAL, NAL, BAE, EAE and CVE in WRS-based samples increased by: 30.9, 27.8, 27.3, 37.1 and 26.1 %, respectively. Whereas, regarding TS-based samples the k_i values were greater by: 28.7, 23.6, 25.1, 34.9 and 25.2 %, correspondently. The results are generally in good agreement with the studies of Ammari and Schroen [1] and can be interpreted as the result of the influence of many factors, including varied accelerated diffusion of ACs to the headspace due to the changes in the rheological properties of research matrices and non-covalent interactions between ACs and biopolymers. The van't Hoff equation was used to evaluate changes of equilibrium constants (k_i) and thus calculated values of enthalpy of vaporization (ΔH_{vap}) are shown in Table 6.

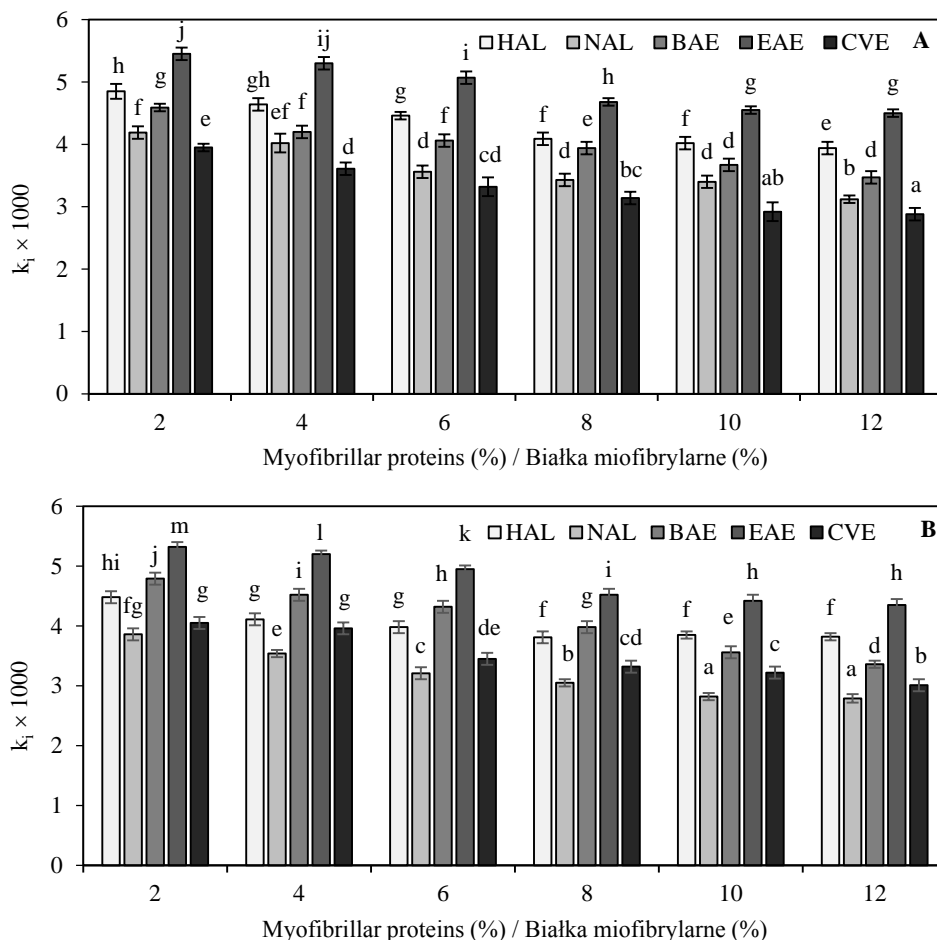


Fig. 3. Partition coefficient of aroma compounds for waxy rice starch - based binary gels (A) and tapioca starch - based binary gels (B), depending on the concentration of myofibrillar proteins.

Rys. 3. Współczynnik podziału dla substancji zapachowych w żelach binarnych na bazie skrobi ryżowej woskowej (A) lub skrobi tapiokowej (B), w zależności od stężenia białek miofibrilarnych.

Explanations / objaśnienia:

(1) Partition coefficient (k_p , 20 °C). (2) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE). (3) Mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

(1) Współczynnik podziału (k_p , 20 °C). (2) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE). (3) Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0,05$).

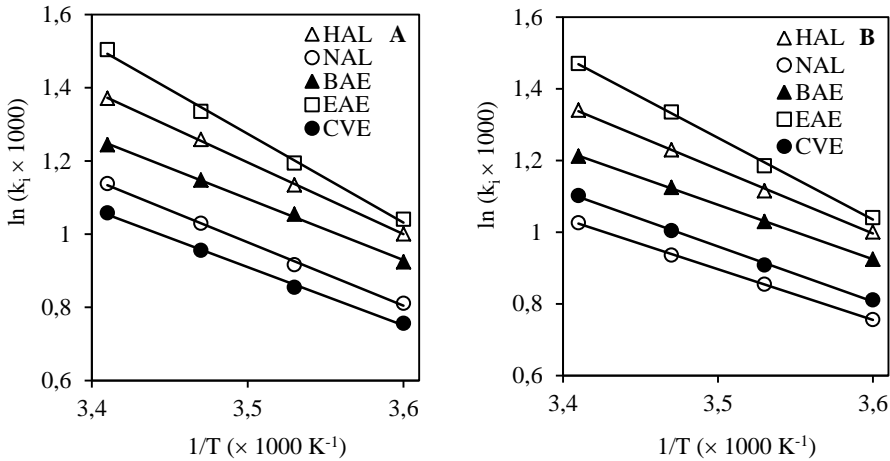


Fig. 4. The \ln of the partition coefficient as a function of $1/T$ (K^{-1}) of aroma compounds for binary gels composed of: 12 % myofibrillar proteins, 8 % waxy rice starch (A) and 12 % myofibrillar proteins, 8 % tapioca starch (B).

Rys. 4. Wartości \ln współczynnika podziału w funkcji $1/T$ (K^{-1}) dla substancji zapachowych w żelach binarnych zawierających: 12 % białek miofibrilarnych, 8 % skrobi ryżowej woskowej (A) lub 12 % białek miofibrilarnych, 8 % skrobi tapiokowej (B).

Explanations / objaśnienia:

(1) Partition coefficient (k_i). (2) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE).

(1) Współczynnik podziału (k_i). (2) Substancje zapachowe: 1-heptanon (HAL), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE).

Table 6. Enthalpy of vaporization of aroma compounds in binary gels, depending on starch type and myofibrillar proteins concentration

Tabela 6. Entalpia parowania substancji zapachowych w żelach binarnych w zależności od rodzaju skrobi i stężenia białek miofibrilarnych

	Waxy rice starch - based binary gels Żele binarne na bazie skrobi ryżowej woskowej						Tapioca starch - based binary gels Żele binarne na bazie skrobi tapiokowej					
	Myofibrillar proteins concentration (%) / Stężenie białek miofibrilarnych (%)											
	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12
HAL	23.3 ^e	23.1 ^e	22.8 ^e	17.2 ^b	16.9 ^b	16.7 ^b	21.2 ^d	18.5 ^c	17.4 ^b	16.5 ^b	15.2 ^a	15.1 ^a
NAL	19.4 ^f	18.8 ^f	17.6 ^c	16.8 ^e	15.9 ^d	14.8 ^c	17.1 ^e	15.8 ^d	13.9 ^b	13.6 ^b	12.2 ^a	12.1 ^a
BAE	21.5 ^b	19.3 ^c	18.4 ^d	18.1 ^d	15.2 ^e	14.3 ^f	22.7 ^g	21.7 ^f	18.6 ^d	15.9 ^c	13.8 ^b	13.1 ^a
EAE	25.7 ^e	24.2 ^d	23.1 ^c	21.5 ^b	21.1 ^b	20.7 ^b	24.6 ^d	23.2 ^c	21.8 ^b	20.3 ^a	19.9 ^a	19.5 ^a
CVE	18.1 ^e	16.8 ^d	15.8 ^c	15.1 ^b	13.9 ^a	13.6 ^a	17.6 ^e	18.2 ^e	16.2 ^c	15.3 ^b	13.5 ^a	13.1 ^a

Explanations / objaśnienia:

(1) Aroma compounds: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanone (BAE), ethyl acetate (EAE), s-(+)-carvone (CVE).

(2) Enthalpy of vaporization (ΔH_{vap} , kJ mol^{-1}).

(3) Within the rows, mean values marked with the same letters are not statistically different ($p \leq 0.05$).

(1) Substancje zapachowe: 1-heptanol (HAL), nonanal (NAL), 2-butanon (BAE), octan etylu (EAE), s-(+)-karwon (CVE).

(2) Entalpia parowania (ΔH_{vap} , kJ mol^{-1}).

(3) W obrębie wierszy wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p \leq 0,05$).

In both studied sets of samples, ΔH_{vap} were negatively correlated with increasing MPs concentration ($r \leq -0.908$; $p \leq 0.05$) and according to ANOVA, in samples aromatized with HAL and NAL, mostly affected by ST ($F \geq 9.48$; $p \leq 0.01$), whereas in those composed of: BAE, EAE, CVE, predominantly by MPs concentration ($F \geq 4.28$; $p \leq 0.01$). The decrease of ΔH_{vap} values was dependent on the AC type and BG composition, and generally was greater ($p \leq 0.05$) in the case of samples containing TS than WRS. During equilibrium vaporization, a certain amount of energy (ΔH_{vap}) must be supplied to facilitate the escaping of ACs from the restraint caused by intermolecular attractive forces [24]. Thus the results obtained give the dependency of the k_i determined at equilibrium with respect to temperature.

Conclusions

1. Gluten-free binary gels (BGs) prepared using myofibrillar proteins (MPs) and starches composed of different amylose/amylopectin ratios enable modelling in a wide range of their rheological properties and the retention and release of aroma compounds (ACs) with different affinities to the oil and water phases.
2. ACs containing carbonyl groups (aldehyde, ketones), due to non-covalent and covalent interactions with myofibrillar proteins (MPs), exhibited higher retention values than other ACs (alcohol, ester).
3. The values of gas/binary gel partition coefficient and enthalpy of vaporization were dependent on the physicochemical properties of AC and BG composition, especially the MPs content in the system.
4. The rheological properties of BGs related to the consistency index and quality factor significantly influenced the kinetics and mechanism of ACs release, to a greater extent in systems containing tapioca starch than in those with waxy rice starch.
5. Gluten-free binary gels containing a relatively large amount (10-12 %) of MPs can be intended for direct consumption and as subsystems for other food products to increase the stability of ACs belonging to various classes of chemical compounds.

This work was financed from statutory funds of the Department of Fish, Plant and Gastronomy Technology, West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland.

References

- [1] Ammari A., Schroen K.: Effect of ethanol and temperature on partition coefficients of ethyl acetate, isoamyl acetate, and isoamyl alcohol: Instrumental and predictive investigation. *J. Chem. Eng.*, 2019, 64, 3224–3230.
- [2] Anantharamkrishnan V., Hoyer T., Reineccius G.A.: Covalent adduct formation between flavor compounds of various functional group classes and the model protein β -lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68, 6395–6402.
- [3] Aprudu I., Dumitrascu L., Răpeanu G., Bahrim G.-E., Stanciuc N.: Spectroscopic and molecular modeling investigation on the interaction between folic acid and bovine lactoferrin from encapsulation perspectives. *Foods*, 2020, 9, #744.
- [4] Bleicher J., Ebner E.E., Bak K.H.: Formation and analysis of volatile and odor compounds in meat—A review. *Molecules*, 2022, 27, #6703.
- [5] Bortnowska G.: Effects of composition and storage time of biopolymers-based emulsion-filled gels on the retention and release of aroma compounds: Thermodynamic and kinetic studies. *Food Chem.*, 2022a, 382, 132308.
- [6] Bortnowska G.: Effects of starch type and concentration on the physicochemical, rheological and sensory properties of bream (*Abramis brama* L.) surimi-based gels enriched with β -1,3/1,6-D-glucans. *Eng. Sci. Technol.*, 2022b, 1(38).
- [7] Buljeta I., Pichler A., Ivić I., Šimunović J., Kopjar M.: Encapsulation of fruit flavor compounds through interaction with polysaccharides. *Molecules*, 2021, 26, #4207.
- [8] Cao Y., Xiong Y.L.: Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein. *Food Chem.*, 2015, 180, 235–243.
- [9] Dara P.K., Geetha A., Mohanty U., Raghavankutty M., Mathew S., Nagarajaro R.C., Rangasamy A.: Extraction and characterization of myofibrillar proteins from different meat sources: A comparative study. *J. Bioresour. Bioprod.*, 2021, 6, 367–378.
- [10] Deng X., Ma Y., Lei Y., Zhu X., Zhang L., Hu L., Lu S., Guo X., Zhang J.: Ultrasonic structural modification of myofibrillar proteins from *Coregonus peled* improves emulsification properties. *Ultrason. Sonochem.*, 2021, 76, #105659.
- [11] Diao X., Guan H., Zhao X., Chen Q., Kong B.: Properties and oxidative stability of emulsions prepared with myofibrillar protein and lard diacylglycerols. *Meat Sci.*, 2016, 115, 16–23.
- [12] Fan Y., Zhang L., Wang X., Wang K., Wang L., Wang Z., Xue F., Zhu J., Wang C.: Rheological thixotropy and pasting properties of food thickening gums orienting at improving food holding rate. *Appl. Rheol.*, 2022, 32, 100–121.
- [13] Lee R.U., Stahlman S.L., Jared S. Magee J.S.: Celiac disease on the rise in the US military population: A 22 year retrospective epidemiologic study. *Dig. Dis. Sci.*, 2023, 68, 3115–3118.
- [14] Lesme H., Alleaume C., Bouhallab S., Famelart M.-H., Marzin C., Lopez-Torres L., Prost C., Rannou C.: Aroma-retention capacities of functional whey protein aggregates: Study of a strawberry aroma in solutions and in fat-free yogurts. *Food Res. Int.*, 2020, 136, #109491.
- [15] Pérez C.B., Teresa Oliviero T., Fogliano V., Jansen H.-G., Martins S.I.F.S.: Flavour them up! Exploring the challenges of flavoured plant-based foods. *Flavour Fragr.*, 2023, 38, 125–134.

- [16] Quevedo M., Karbstein H.P., Emin M.A.: Concentration-dependent changes in the reaction behavior of whey proteins: Diffusion-controlled or transition state-controlled reactions? *Food Hydrocoll.*, 2021, 118, #106745.
- [17] Sangwongchai W., Tananuwong K., Krusong K., Natee S., Thitisaksakul M.: Starch chemical composition and molecular structure in relation to physicochemical characteristics and resistant starch content of four Thai commercial rice cultivars differing in pasting properties. *Polym.*, 2023, 15, #574.
- [18] Shen H., Huang M., Zhao M., Sun W.: Interactions of selected ketone flavours with porcine myofibrillar proteins: The role of molecular structure of flavour compounds. *Food Chem.*, 2019, 298, #125060.
- [19] Snel S.J.E., Pascu M., Bodnár I., Avison S., van der Goot A.J., Beyrer M.: Flavor-protein interactions for four plant proteins with ketones and esters. *Heliyon*, 2023, 9, #16503.
- [20] Su K., Brunet M., Festring D., Ayed C., Foster T., Fisk I.: Flavour distribution and release from gelatine-starch matrices. *Food Hydrocoll.*, 2021, 112, #106273.
- [21] Tang S., Li J., Huang G., Yan L.: Predicting protein surface property with its surface hydrophobicity. *Protein Pept. Lett.*, 2021, 28, 938-944.
- [22] Tian Y., Song Q., Liu Z., Ye F., Zhou Y., Zhao G.: Linear and non-linear rheological properties of water-ethanol hybrid pectin gels for aroma enhancement. *Food Chem.: X*, 2022, 14, #100328.
- [23] Wang X., Feng T., Fan C., Wang X., Xia S., Yu J., Swing C.J.: Effect of tannic acid-OSA starch complexation on the binding capacity and release of aldehydes off-flavor in aqueous matrix. *Food Chem.*, 2023, 15, 426, #136560.
- [24] Yu D., Chen Z.: A theoretical analysis on enthalpy of vaporization: Temperature-dependence and singularity at the critical state. *Fluid Ph. Equilibria*, 2020, 516, #112611.
- [25] Yang X., Li A., Li D., Guo Y., Sun L.: Applications of mixed polysaccharide-protein systems in fabricating multi-structures of binary food gels-A review. *Trends Food Sci. Techn.*, 2021, 109, 197-210.
- [26] Yang C., Wang X., Hu H., Feng Y., Tang H., Zhang W., Wang J.: Cold-set oat protein isolate-gellan gum binary gels with various microstructures: Fabrication, characterization, formation mechanism, and controlled. release properties. *Food Hydrocoll.*, 2022, 131, #107818.
- [27] Yang J., Reddy C.K., Fan Z., Xu B.: Physicochemical and structural properties of starches from non-traditional sources in China. *Food Sci. Hum. Wellness*, 2023, 12, 416-423.
- [28] Zafeiropoulou T., Evageliou V., Gardeli C., Yanniotis S., Komaitis M.: Retention of selected aroma compounds by gelatine matrices. *Food Hydrocoll.*, 2012, 28, 105-109.
- [29] Zhou X., Lin H., Zhu S., Xu X., Lyu F., Ding Y.: Textural, rheological and chemical properties of surimi nutritionally enhanced with lecithin. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2020,122, #108984.

WPLYW SKŁADU BEZGLUTENOWYCH ŻELI BINARNYCH NA RETENCJĘ I UWALNIANIE SIĘ SUBSTANCJI ZAPACHOWYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Bezglutenowe żele binarne (BGs) wytwarzane z użyciem polisacharydów i białek zwierzęcych mogą być produktami spożywczymi o dużym znaczeniu praktycznym ze względu na stale postępujące zagrożenie celiakią. Ponadto zrozumienie czynników wpływających na stabilność substancji zapachowych (ACs) jest bardzo ważne, ponieważ akceptacja żywności przez konsumentów zależy głównie od jej aromatu. Celem badań była ocena termodynamicznych i kinetycznych właściwości ACs w BGs

przygotowanych z użyciem skrobi różniących się zawartością amylozy w zależności od stężenia białek miofibrylarnych (MPs). BGs zawierały: 8 % skrobi ryżowej woskowej (WRS) lub skrobi z tapioki (TS) oraz MPs w zakresie $2 \div 12$ %. Do aromatyzacji BGs zostały użyte: 1-heptanol, nonanal, 2-butanon, octan etylu, oraz s-(+)-karwon. Badania obejmowały pomiary: właściwości reologicznych BGs, niekowalencyjnych oddziaływań pomiędzy miozyną i ACs oraz ich retencji i uwalniania, a także entalpii parowania (ΔH_{vap}).

Wyniki i wnioski. Głównymi niekowalencyjnymi interakcjami pomiędzy miozyną i ACs były wiązania wodorowe i oddziaływania hydrofobowe. Parametry retencji i uwalniania się ACs, wyznaczone w czasie chłodniczego przechowywania BGs (12 dni), były statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) zależne od: rodzaju skrobi, stężenia MPs oraz fizykochemicznych właściwości ACs. Stałe szybkości uwalniania się ACs były statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) skorelowane z odpowiadającymi im stałymi zmian parametrów reologicznych wyznaczonymi z równania kinetycznego pierwszego rzędu. Wartości ΔH_{vap} w BGs zawierających TS były na ogół mniejsze ($p \leq 0,05$) niż w odpowiednikach przygotowanych z dodatkiem WRS. Żele binarne (BGs) o stosunkowo dużej zawartości białka mogą być przeznaczone do bezpośredniego spożycia oraz jako podukłady do innych produktów spożywczych w celu zwiększenia stabilności ACs.

Słowa kluczowe: żele binarne, aromat, interakcje, retencja i uwalnianie, entalpia parowania ☒

DOROTA GAŁKOWSKA, MONIKA POŁUDNIAK, LESŁAW JUSZCZAK

WPLYW POLIDEKSTROZY NA CHARAKTERYSTYKĘ REOLOGICZNĄ ORAZ WŁAŚCIWOŚCI SENSORYCZNE DESERÓW SKROBIOWO- -MLECZNYCH O OBNIŻONEJ ZAWARTOŚCI SACHAROZY

Streszczenie

Wprowadzenie. Celem pracy była ocena wpływu zastąpienia sacharozy polidekstrozą (E 1200) na charakterystykę reologiczną oraz właściwości sensoryczne deserów mleczno-skrobiowych słodzonych glikozydami stewiolowymi. Materiał badany stanowiły desery wytworzone ze skrobi ziemniaczanej utlenionej (E 1404), odtłuszczonego mleka w proszku, kurkuminy, aromatu waniliowego oraz sacharozy i/lub mieszaniny polidekstrozy (E 1200) z glikozydami stewiolowymi (E 960). Analizy reologiczne deserów obejmowały wyznaczenie charakterystyki kleikowania, krzywych lepkości oraz spektrów mechanicznych. W ramach analizy sensorycznej deserów dokonano oceny ich smakowitości oraz tekstury metodą ilościowej analizy opisowej, a także zbadano ogólną akceptowalność.

Wyniki i dyskusja. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że częściowe lub całkowite wyeliminowanie sacharozy ze składu deserów i zastąpienie jej mieszaniną polidekstrozy z glikozydami stewiolowymi doprowadziło do zmniejszenia ich lepkości maksymalnej wyznaczanej na etapie ogrzewania w cieście kleikowania, natomiast nie wpłynęło na zmianę temperatury kleikowania skrobi. Analizowane desery wykazywały właściwości płynów nienewtonowskich rozrzedzanych ścinaniem, a modyfikacja receptury skutkowałą zmniejszeniem wartości współczynnika konsystencji oraz ograniczeniem udziału cech sprężystych bez istotnego wpływu na cechy lepkości układu. Desery, w których w większym stopniu lub całkowicie zastąpiono sacharozę polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi w ocenie sensorycznej wywoływały efekt chłodzący i charakteryzowały się posmakiem lukrecji, przy czym zachowały słodkość zbliżoną do słodkości deseru słodzonego tylko sacharozą. Modyfikacja receptury deserów nie wpłynęła na adhezyjność oraz rozplywalność w ustach gotowych wyrobów, natomiast przyczyniła się do zmniejszenia ich lepkości i ciągliwości ocenianych metodą analizy sensorycznej. Zarówno tekstura, jak i smakowitość deserów sporządzonych wg receptury, w której 2/3 ilości sacharozy lub całkowitą jej ilość zastąpiono polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi okazały się mniej akceptowalne sensorycznie niż deser niezawierający polidekstrozy.

Słowa kluczowe: desery, skrobia utleniona, polidekstroza, glikozydy stewiolowe, właściwości reologiczne, jakość sensoryczna

Wprowadzenie

Desery są słodkimi daniami, serwowanymi na zimno lub ciepło, zazwyczaj po głównym posiłku. Ze względu na wysoką zawartość zarówno węglowodanów, szczególnie sacharozy i cukrów prostych, jak i tłuszczu charakteryzują się one wysoką wartością energetyczną. Istnieje możliwość obniżenia jej poprzez redukcję zawartości cukrów i tłuszczu, z jednoczesnym zastąpieniem ich odpowiednimi substancjami o charakterze substancji dodatkowych lub zamienników, bez znacznego wpływu na zmianę cech sensorycznych i fizykochemicznych deserów, a w konsekwencji na zmianę akceptowalności konsumenckiej [5, 27, 29]. Odpowiednio skomponowane desery mogą być również źródłem cennych substancji odżywczych i bioaktywnych [21].

Budynie (kisiele mleczne) przygotowuje się z mleka, substancji zagęszczających, sacharozy oraz innych składników, np. żółtek jaj, masła, kakao, wanilii lub kawy. Podstawowym składnikiem strukturotwórczym w tego typu deserach jest zazwyczaj skrobia – naturalna lub modyfikowana chemicznie. Rolę substancji strukturotwórczych i zagęszczających w deserach mogą również pełnić inne hydrokoloidy polisacharydowe lub białka [12, 13, 23, 32]. Najczęściej stosowanymi substancjami w takich układach są: karageny, pektyny, mączka chleba świętojańskiego, żelatyna lub ich mieszaniny, np. karagenu z mączką chleba świętojańskiego, karagenu ze skrobią lub karagenu z białkami mleka [8].

Substancją zagęszczającą powszechnie stosowaną w produkcji deserów mlecznych jest skrobia utleniona. Skrobia taka, przeznaczona do celów spożywczych, charakteryzuje się obecnością w strukturze grup karboksylowych, w ilości nie większej niż 1,1% [12]. Grupy te wpływają na właściwości fizykochemiczne skrobi, m.in. na zdolność pęcznienia, rozpuszczalność i temperaturę kleikowania oraz na charakterystykę reologiczną wytworzonych z niej kleików i żeli [24, 28]. Skrobia utleniona kleikuje w niższej temperaturze niż skrobia niemodyfikowana, tworzy kleiki i żele o mniejszej lepkości, lecz bardziej stabilne oraz wykazuje mniejszą tendencję do retrogradacji i synerazy niż skrobia natywna [12, 28].

Składnikiem decydującym o smakowitości deserów jest sacharoza będąca najpopularniejszym środkiem słodzącym stosowanym w przetwórstwie żywności. Ponadto, wykazuje ona właściwości strukturotwórcze, wiążące, wypełniające i konserwujące. Zatem częściowe zredukowanie zawartości sacharozy w produkcie lub całkowite jej wyeliminowanie z niego wiąże się z koniecznością zastosowania odpowiednich mieszanin substancji słodzących – alkoholi wielowodorotlenowych lub substancji intensywnie słodzących – i wypełniających w celu zachowania właściwej słodkości i pożądanых cech teksturalnych produktu [5]. Do substancji słodzących należą związki otrzymany syntetycznie oraz substancje pochodzenia naturalnego. Te pierwsze, mimo statusu substancji bezpiecznych do stosowania, nierzadko bywają nieakceptowane przez konsumentów. Substancjami intensywnie słodzącymi naturalnego pocho-

dzenia są glikozydy stewiolowe (E 960), izolowane z liści rośliny *Stevia rebaudiana* Bert. Zostały one dopuszczone do stosowania na obszarze Unii Europejskiej rozporządzeniem Komisji (UE) nr 1131/2011 [31]. Glikozydy stewiolowe są ok. 300 razy słodsze od sacharozy i są bezkaloryczne. Zastąpienie nimi sacharozy pozwala na zachowanie porównywalnego słodkiego smaku żywności. Ponadto, wykazują one stabilność termiczną w szerokim spektrum pH, co sprawia, że mogą być stosowane w produkcji żywności poddawanej obróbce wysokotemperaturowej [3, 20, 34]. Omawiane substancje mogą być przyjmowane przez osoby chorujące na fenylketonurię. Spożycie glikozydów stewiolowych nie powoduje wzrostu stężenia glukozy we krwi [34].

Jak wspomniano wcześniej, w celu zachowania odpowiedniej charakterystyki reologicznej produktu, w którym sacharozę zastąpiono niewielką ilością substancji słodzącej, należy w jego recepturze uwzględnić substancję wypełniającą. W tej kwestii interesującym rozwiązaniem jest wykorzystanie substancji tekstotwórczej i jednocześnie wykazującej właściwości prebiotyczne. Przykładem takiej substancji jest polidekstroza (E 1200). Jest ona syntetycznym, rozgałęzionym polimerem, otrzymywanym w drodze polikondensacji glukozy. Produkt ten stanowią przypadkowo połączone nisko- i wysokocząsteczkowe polimery glukozy, zawierające wiązania glikozydowe różnego typu. Polidekstroza cechuje się dobrą rozpuszczalnością w wodzie oraz stabilnością reologiczną w czasie przetwarzania [6, 35]. Stanowi błonnik rozpuszczalny, nie trawiony przez enzymy endogenne organizmu. Metabolizowana jest częściowo dopiero przez mikroflorę jelita grubego, w wyniku czego powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, wchłaniane w jelicie cienkim [6]. Polidekstroza stosowana jest jako zamiennik cukru w produktach dietetycznych, niskokalorycznych oraz w żywności dla diabetyków, pełniąc również funkcje wypełniacza, nośnika, stabilizatora i zagęstnika. Jak podają Srisuvor i wsp. [33], wprowadzenie polidekstrozy do jogurtu o obniżonej zawartości tłuszczu powoduje wytworzenie bardziej stabilnej i odpornej na synerezę struktury żelowej. Polidekstroza znajduje zastosowanie w gumach do żucia, słodyczach, sosach do sałatek, mrożonych deserach, wypiekach i mieszankach do pieczenia, nadzieniu do ciast, polewach, napojach gazowanych i niegazowanych, fermentowanych napojach mlecznych [35].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu zastąpienia sacharozy polidekstrozą na charakterystykę reologiczną i jakość sensoryczną deserów mleczno-skrobiowych o obniżonej zawartości cukru.

Material i metody badań

Składniki recepturowe deserów

Do sporządzenia deserów mlecznych stanowiących materiał badany wykorzystano następujące surowce: skrobię ziemniaczaną utlenioną, tzw. mączkę budyniową

(E 1404) (WPPZ S.A., Polska), odtłuszczone mleko w proszku (S.M. Rovema, Polska), cukier biały (Diamant. Pfeifer & Langen S.A., Polska), glikozydy stewiolowe Pure ReB A 95% (Stevija, Holandia), polidekstrozę (E 1200) (Danisco A/S, Dania), barwnik kurkuminę (E 100) (JAR Aromaty, Polska) oraz płynny aromat waniliowy (Delecta – Rieber Foods S.A., Polska).

Receptura deserów

Podstawowy skład recepturowy deserów obejmował: 100 cm³ mleka przygotowanego zgodnie z instrukcją producenta, 9 g skrobi utlenionej, 9 gramów cukru, 5 kropli aromatu i 3 krople barwnika. Deser o powyższym składzie recepturowym stanowił próbę kontrolną, niezawierającą glikozydów stewiolowych i polidekstrozy. W kolejnych deserach część cukru – w ilości 1/3 lub 2/3 zawartości ustalonej w próbie kontrolnej – lub jego całość zastępowano odpowiednią ilością glikozydów stewiolowych, przyjmując stosunek masowy zastąpienia sacharozy glikozydami stewiolowymi wynoszący 300:1. Całość uzupełniano odpowiednią ilością polidekstrozy, przyjmując stosunek zastąpienia masy sacharozy masą polidekstrozy wynoszący 1:1. Sporządzone próbki oznakowano symbolami: 3S/0P (próba kontrolna); 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P, w których 3S-0S oznaczało desery zawierające odpowiednio od 3 do 0 części sacharozy (z trzech możliwych), a 0P-3P oznaczało desery zawierające odpowiednio od 0 do 3 części polidekstrozy zastępującej sacharozę.

Sporządzanie deserów

Desery mleczne przygotowano według następującej procedury. 80 cm³ mleka ogrzano na płycie grzewczej do temperatury 90 ± 5 °C. Następnie mleko podgrzano w łaźni wodnej do temperatury 100 ± 2 °C. Mieszaninę deserową, tj. skrobię utlenioną, sacharozę i/lub glikozydy stewiolowe i/lub polidekstrozę, aromat oraz barwnik wymieszano z pozostałą częścią mleka (20 cm³). Otrzymaną zawiesinę dodano do gorącego mleka i mieszano przez 10 min. Gotowe desery schłodzono do temperatury pokojowej (~25 °C).

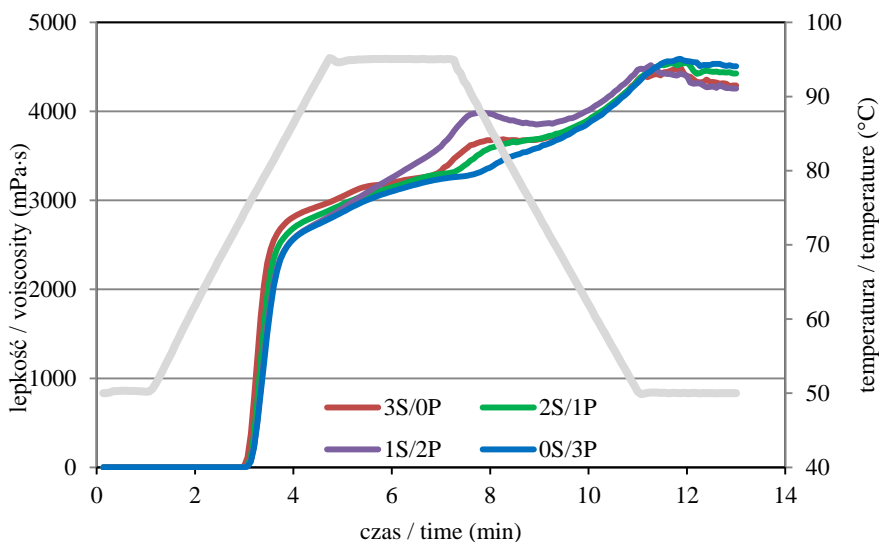
Badanie właściwości reologicznych

Charakterystykę kleikowania skrobi utlenionej w obecności pozostałych składników recepturowych poszczególnych deserów wyznaczono, stosując wiskozymetr RVA (ang. rapid visco analyser; TecMaster, Perten Instruments, Szwecja). Zawiesiny mieszanin deserowych w mleku przetrzymywano w 50 °C przez 1 min, następnie ogrzewano do 95 °C z szybkością 12 °C/min, przetrzymywano w temperaturze 95 °C przez 2,5 min, chłodzono do 50 °C z szybkością 12 °C/min i przytrzymywano w temperaturze 50 °C przez 2 min. Przez cały cykl pomiarowy próbkę mieszano z szybkością 160 rpm. Na podstawie otrzymanych krzywych lepkości wyznaczono: temperaturę

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka reologiczna

Struktura deserów mleczno-skrobiowych o charakterze lepkosprężystym powstaje w rezultacie ogrzewania i następnie chłodzenia mieszaniny składników i substancji dodatkowych wchodzących w jego skład. Decydującymi czynnikami mającymi wpływ na strukturę produktu gotowego oraz na postrzeganą przez konsumentów charakterystykę teksturalną są rodzaj i ilość skrobi, wzajemne oddziaływania pomiędzy skrobią a pozostałymi składnikami lub dodatkami, a także warunki obróbki termicznej [8, 13]. Krzywe kleikowania skrobi w mieszaninach deserowych przedstawiono na rycinie 1, natomiast wyznaczone na ich podstawie wartości parametrów charakterystyki kleikowania zestawiono w tabeli 1. Kleikowanie skrobi w obecności nieskrobiowych składników zawartych w recepturze deserów obejmowało gwałtowny wzrost lepkości układu po przekroczeniu temperatury kleikowania i uzyskaniu jej maksimum w temperaturze 95 °C, po czym, podczas etapu chłodzenia, następował dalszy wzrost lepkości, aż do uzyskania wartości maksymalnej w temperaturze 50 °C.



Ryc. 1. Krzywe kleikowania skrobi w mieszaninach deserowych

Fig. 1. Curves of starch pasting in the dessert mixtures

Cechą odróżniającą krzywe kleikowania skrobi utlenionej w badanych układach od typowych krzywych kleikowania skrobi w wodzie jest intensywny wzrost lepkości układu w początkowej fazie ogrzewania z następującym po nim łagodniejszym zwiększaniem się lepkości, aż do osiągnięcia wartości maksymalnej po ochłodzeniu próbki do 50 °C. Osiągnięcie lepkości maksymalnej (PV) podczas ogrzewania zawiesiny skro-

biowej związane jest ze zdolnością ziaren skrobi do swobodnego pęcznienia, które poprzedza ich hydrotermiczną dezintegrację [16]. Biorąc pod uwagę stosunkowo wysokie stężenie skrobi w analizowanych próbkach (9%, m/v), można uznać, że obserwowane wartości lepkości maksymalnej są niższe od wartości osiąganych w przypadku kleikowania niemodyfikowanej skrobi ziemniaczanej [30]. Wskazuje to na zaistniałe w układzie ograniczenia w pęcznieniu ziaren skrobiowych wynikające z mniejszej ilości wody dostępnej dla ziaren skrobi, co wynikało z obecności składników nieskrobiowych w układzie, tj. sacharozy i/lub polidekstrozy, a także składników suchej masy mleka. Efektem tego jest brak wyraźnego maksimum lepkości na krzywej kleikowania – lepkość układów stale wzrastała, choć w różnym tempie, aż do ich schłodzenia do temperatury 50 °C, tworząc odmienny obraz krzywych kleikowania niż ma to miejsce w przypadku ogrzewania zawiesin skrobiowych w środowisku wodnym [9, 30]. Wzajemne oddziaływania pomiędzy białkami mleka oraz sacharozą a skrobią mają istotny wpływ na charakterystykę reologiczną gotowego produktu [13, 36]. Wpływ ten jest zależny od takich czynników jak: stężenie i pochodzenie białka, czas i warunki obróbki termicznej oraz obecność innych substancji, np. sacharozy, w układzie [2, 9]. Jak pokazały wcześniejsze badania [26], wpływ białek mleka na charakterystykę reologiczną skrobi podczas kleikowania może być związany z ograniczoną możliwością pęcznienia i/lub aktywnością powierzchniowo czynną samych białek. Według Kumara i wsp. [22] poszczególne frakcje białek mleka w odmienny sposób wpływają na właściwości reologiczne skrobi podczas kleikowania – cząsteczki kazeiny zdolne do tworzenia większych agregatów adsorbują się na powierzchni ziaren skrobiowych, ograniczając ich zdolność pęcznienia, natomiast białka serwatkowe lokując się głównie w fazie rozpraszającej zagęszczają środowisko wodne. Do podobnych wniosków doszli Kett i wsp. [18], którzy wykazali, że kazeiniany w odróżnieniu od białek serwatkowych wzmacniają strukturę ziaren skrobiowych, zwiększając ich odporność na pęcznienie, co powoduje opóźnienie początku wzrostu lepkości podczas ogrzewania, a więc podwyższenie temperatury kleikowania. Z kolei Gałkowska i wsp. [11] wykazali, że równie ważnym czynnikiem determinującym charakterystykę reologiczną układów skrobi z białkiem jest zawartość amylozy w skrobi. W niniejszej pracy zastąpienie części sacharozy lub jej całkowitej ilości polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi w mieszaninach deserowych miało również wpływ na wybrane parametry charakterystyki kleikowania (Tab. 1). Zmiany w recepturze deserów skrobiowych mające na celu eliminację sacharozy nie miały istotnego ($p > 0.05$) wpływu na temperaturę kleikowania skrobi, która wyniosła około 74 °C. Pycia i wsp. [30] podają, że początek kleikowania naturalnej skrobi ziemniaczanej w wodzie zawiera się w przedziale od 69 do 72 °C. Z kolei Pietrzyk i wsp. [28] wskazują, że w zależności od stopnia modyfikacji skrobi ziemniaczanej utlenionej jej temperatura kleikowania przyjmuje wartości z zakresu od 67,0 do 70,9 °C i jest tym niższa, im większy jest stopień utlenienia skrobi.

Niższa temperatura kleikowania skrobi utlenionej w porównaniu ze skrobią naturalną wynika głównie z jej luźniejszej struktury i częściowej depolimeryzacji będącej skutkiem modyfikacji skrobi. Przyczynę stosunkowo wysokiej temperatury kleikowania skrobi utlenionej, wyznaczonej w niniejszych badaniach, można zatem upatrywać w obecności w układzie składników nieskrobiowych, szczególnie białek mleka i sacharozy, które redukują ilość dostępnej dla skrobi wody, a przez to ograniczają pęcznienie ziaren skrobiowych. Gałkowska i wsp. [13] zaobserwowali, że zmniejszenie ilości sacharozy w zawiesinach skrobiowych wpływa na obniżenie temperatury kleikowania skrobi ze względu na zwiększoną dostępność wody dla skrobi.

Tabela 1. Parametry charakterystyki kleikowania skrobi utlenionej w mieszaninach deserowych
Table 1. Parameters of pasting characteristics of oxidized starch in the dessert mixtures

Próba / Sample	Parametr / Parameter			
	PT [°C]	PV [mPa·s]	HPV [mPa·s]	FV [mPa·s]
3S/0P	74,1 ^a ± 0,6	3053 ^c ± 7	3314 ^a ± 26	4260 ^{ab} ± 59
2S/1P	74,4 ^a ± 0,3	2961 ^b ± 30	3306 ^a ± 59	4386 ^b ± 87
1S/2P	74,6 ^a ± 0,5	2927 ^{ab} ± 24	3626 ^b ± 77	4250 ^a ± 23
0S/3P	74,3 ^a ± 0,6	2868 ^a ± 49	3234 ^a ± 25	4506 ^c ± 44

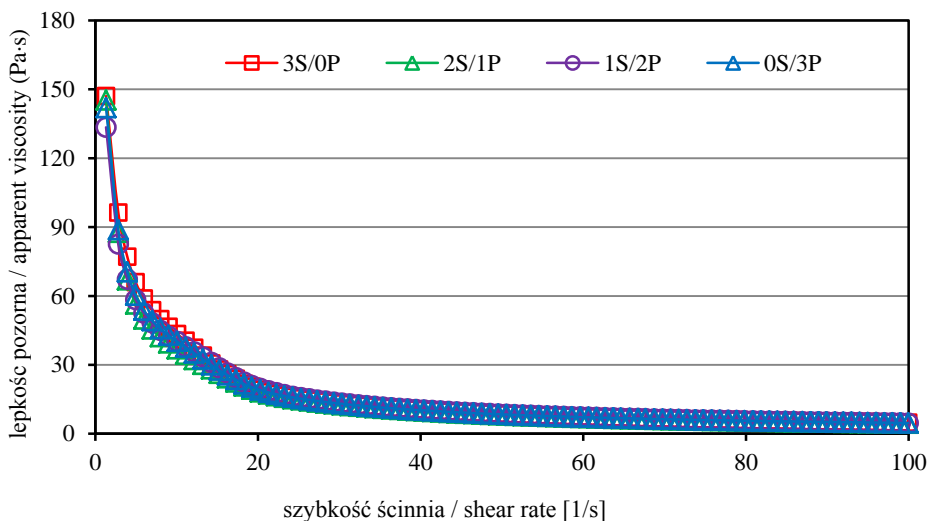
Objaśnienia / Explanations:

3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desery zawierające odpowiednio od 3 do 0 części sacharozy oraz od 0 do 3 części polidekstrozy / 3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desserts containing from 3 to 0 parts of sucrose and from 0 to 3 parts of polydextrose, respectively; wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in columns marked with different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$)

Najwyższą wartością lepkości maksymalnej w fazie ogrzewania (PV) odznaczał się deser słodzony wyłącznie sacharozą. Zastąpienie sacharozy glikozydami stewioliowymi i polidekstrozą skutkowało istotnym ($p < 0,05$) zmniejszeniem PV powstałych deserów (Tab. 1). W przeciwieństwie do tendencji zmian lepkości obserwowanych w przypadku charakterystyki kleikowania natywnej skrobi ziemniaczanej [30], lepkość badanych układów nie zmniejszała się w trakcie przetrzymywania w temperaturze 95 °C, lecz stale się zwiększała (Ryc. 1, Tab. 1), przy czym nie zaobserwowano wyraźnego trendu obrazującego wpływ eliminacji sacharozy z układu na wzrost lepkości deseru. Niejednokorny wpływ obecności polidekstrozy lub inuliny na wartości lepkości HPV natywnej skrobi ziemniaczanej stwierdzili również Gałkowska i wsp. [14]. Zróżnicowane wartości lepkości końcowej (FV) deserów mlecznych nie umożliwiły wskazania jednego kierunku zmian wartości tego parametru wskutek zmniejszania ilości sacharozy i zwiększania ilości polidekstrozy w układzie – zaobserwowano jednak, iż

deser zawierający największą ilość polidekstrozy (0S/3P) charakteryzował się najwyższą lepkością końcową. Gałkowska i wsp. [13], badając desery skrobiowe o obniżonej zawartości cukru stwierdzili, że próbki na bazie natywnej skrobi ziemniaczanej odznaczały się niższą lepkością maksymalną i wyższą lepkością końcową w porównaniu z deserami na bazie skrobi acetylowanej, a eliminacja sacharozy z układu powodowała zmniejszenie ich lepkości.

Na rycinie 2 pokazano krzywe lepkości analizowanych deserów mleczno-skrobiowych, natomiast parametry modelu potęgowego opisującego krzywe eksperymentalne zestawiono w tabeli 2.



Ryc. 2. Krzywe lepkości deserów

Fig. 2. Viscosity curves of the desserts

Wyniki pomiarów świadczą o istnieniu różnic pomiędzy próbkami we właściwościach reologicznych związanych z ich płynięciem. Analizowane desery wykazywały właściwości płynów nienewtonowskich rozrzedzanych ścinaniem, co oznacza, że ich lepkość pozorna malała wraz ze wzrostem szybkości ścinania. Taki charakter reologiczny wieloskładnikowych układów zawierających skrobię jest zgodny z danymi literaturowymi [2, 14, 15, 32, 36, 37]. Zjawisko rozrzedzania ścinaniem kleików skrobiowych spowodowane jest procesem rozpadu połączeń cząsteczek biopolimerów oraz ich orientacją zgodnie z kierunkiem przepływu, czego skutkiem jest zmniejszanie się odporności układu na przykładane naprężenie ścinające [14, 37].

Tabela 2. Parametry równania potęgowego opisującego krzywą lepkości deserów na bazie skrobi z polidekstrozą

Table 2. Parameters of the power law equation describing viscosity curves of the starch-based desserts with polydextrose

Próba / Sample	Parametr / Parameter		
	K (Pa·s ⁿ)	n (-)	R^2
3S/0P	194,0 ^a ± 9,6	0,26 ^b ± 0,01	0,9891
2S/1P	193,1 ^a ± 8,0	0,23 ^a ± 0,01	0,9961
1S/2P	179,8 ^a ± 9,7	0,27 ^b ± 0,02	0,9908
0S/3P	185,1 ^a ± 13,8	0,21 ^a ± 0,02	0,9954

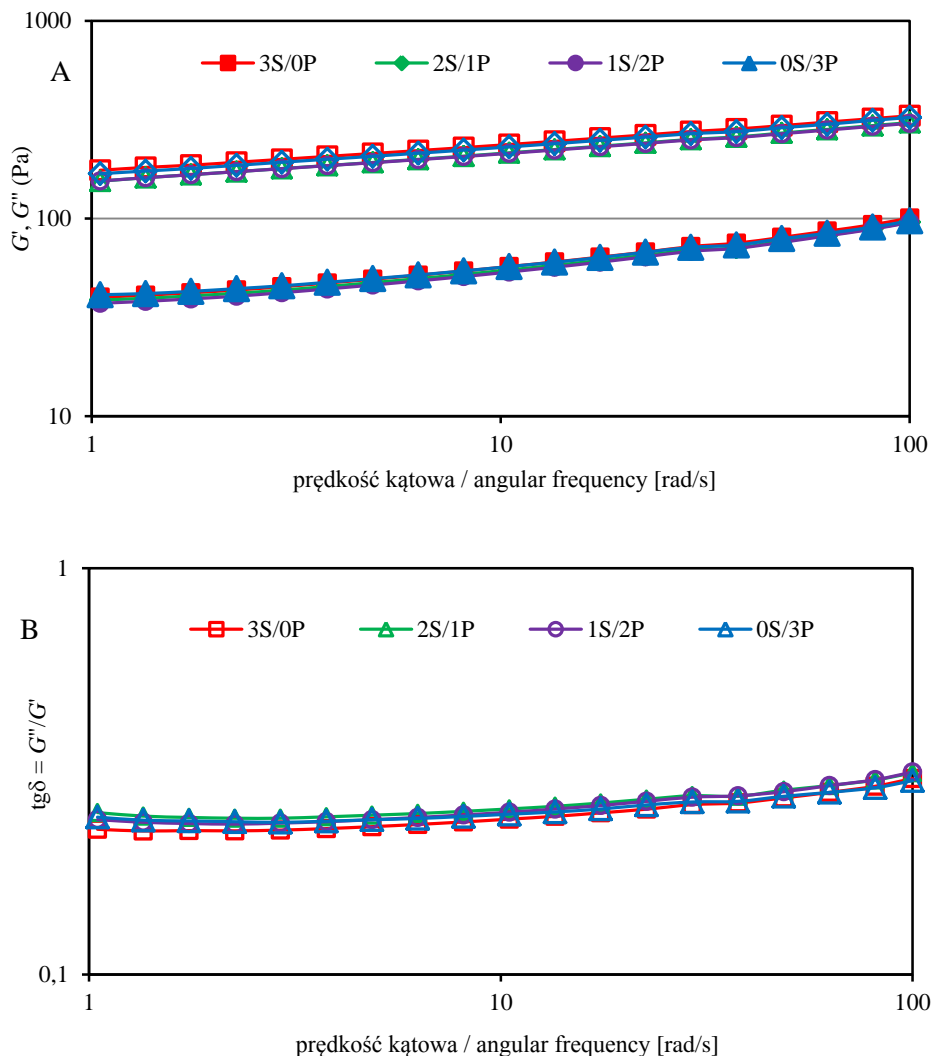
Objaśnienia / Explanations:

3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desery zawierające odpowiednio od 3 do 0 części sacharozy oraz od 0 do 3 części polidekstrozy / 3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desserts containing 3 to 0 parts of sucrose and 0 to 3 parts of polydextrose, respectively;

wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in columns marked with different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$)

Wartości współczynnika konsystencji odzwierciedlającego początkową lepkość pozorną układu wyznaczone z modelu potęgowego opisującego eksperymentalne krzywe płynięcia deserów nie różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) między sobą (Tab. 2). Odmienną zależność stwierdzili Gałkowska i wsp. [14] w przypadku układów na bazie natywnej skrobi ziemniaczanej, w których obecność polidekstrozy powodowała istotny wzrost wartości współczynnika konsystencji, bez istotnego ($p > 0,05$) wpływu na wartości wskaźnika płynięcia. Wyeliminowanie sacharozy z deserów skrobiowych może wpływać w różny sposób, zależny od rodzaju skrobi i substancji zastępującej cukier, na ich lepkość pozorną podczas przepływu [13]. Zmienność wartości wskaźnika płynięcia (n) badanych deserów była niewielka, aczkolwiek istotnie ($p < 0,05$) większą pseudoplastycznością cechowały się desery, w których 1/3 ilości sacharozy lub cała jej ilość została zastąpiona polidekstrozą. Również Furlán i Campderrós [7] stwierdziły brak istotnych różnic w wartościach wskaźnika płynięcia wyznaczonych z krzywych płynięcia deserów mlecznych na bazie skrobi zawierających stewię oraz sukralozę i z krzywej płynięcia deseru słodzonego wyłącznie sacharozą. Natomiast Basu i wsp. [4] wykazali, że zastąpienie danej ilości sacharozy w dżemach znacznie mniejszą ilością substancji intensywnie słodzącej (sukralozy lub glikozydów stewiolowych) oznacza redukcję zawartości ekstraktu, co w konsekwencji powoduje zmniejszenie wartości współczynnika konsystencji oraz granicy płynięcia tych produktów. Z kolei Srisuvor i wsp. [33] podali, że jogurty o obniżonej zawartości tłuszczu wzbogacane polidekstrozą charakteryzowały się większą lepkością pozorną w trakcie

przepływu niż odpowiednie jogurty z inuliną. Natomiast Martínez-Cervera i wsp. [25] zaobserwowali zmniejszenie lepkości pozornej ciasta na muffiny o obniżonej zawartości sacharozy na skutek zamiany sacharozy mieszaniną sukralozy z polidekstrozą.



Ryc. 3. Spekttra mechaniczne deserów jako zależności: modułu zachowawczego – G' (puste markery) i modułu stratności – G'' (pełne markery) (A) oraz tangensa kąta przesunięcia fazowego ($\text{tg}\delta = G''/G'$) (B) od prędkości kątowej

Fig. 3. Mechanical spectra of the desserts as dependencies of the storage modulus – G' (empty markers) and the loss modulus – G'' (full markers) (A) and the tangent of the phase shift angle ($\text{tg}\delta = G''/G'$) (B) on the angular frequency

Na rycinie 3A pokazano spektra mechaniczne jako zależność modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'') od prędkości kątowej (ω) dla deseru kontrolnego oraz próbek, w których sacharozę zastąpiono glikozydami stewiolowymi i polidekstrozą. We wszystkich przypadkach moduł zachowawczy przyjmował większe wartości niż moduł stratności ($G' > G''$), wskazując na przewagę cech sprężystych nad lepkimi, przy jednocześnie istotnej zależności obydwu modułów od prędkości kątowej. Obserwacje te znajdują potwierdzenie w wartościach tangensa kąta przesunięcia fazowego ($\tan\delta$), które zawierały się w przedziale od 0.1 do 1.0 (Ryc. 3B). Wskazuje to, iż badane desery odznaczały się cechami typowymi dla słabych żeli, co jest charakterystyczne dla wielu układów żywnościowych. O omówionych właściwościach reologicznych badanych deserów świadczą również wartości parametrów równań potęgowych opisujących krzywe eksperymentalne (Tab. 3).

Tabela 3. Parametry równań potęgowych opisujących spektra mechaniczne deserów na bazie skrobi z polidekstrozą

Table 3. Parameters of the power law equations describing mechanical spectra of the starch-based desserts with polydextrose

Próba / Sample	Parametr / Parameter					
	K' (Pa·s ^{n'})	n' (-)	R^2	K'' (Pa·s ^{n''})	n'' (-)	R^2
3S/0P	172,1 ^b ± 5,2	0,14 ^a ± 0,00	0,9984	36,9 ^a ± 2,6	0,20 ^a ± 0,01	0,9860
2S/1P	152,8 ^a ± 3,8	0,15 ^a ± 0,01	0,9961	35,6 ^a ± 2,9	0,20 ^a ± 0,01	0,9854
1S/2P	152,9 ^a ± 1,2	0,13 ^a ± 0,01	0,9990	34,3 ^a ± 0,6	0,21 ^a ± 0,01	0,9860
0S/3P	165,5 ^b ± 5,4	0,14 ^a ± 0,00	0,9987	37,8 ^a ± 1,1	0,19 ^a ± 0,01	0,9848

Objaśnienia / Explanations:

3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desery zawierające odpowiednio od 3 do 0 części sacharozy oraz od 0 do 3 części polidekstrozy / 3S/0P; 2S/1P; 1S/2P; 0S/3P – desserts containing 3 to 0 parts of sucrose and 0 to 3 parts of polydextrose, respectively;

wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in columns marked with different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$)

Eliminacja sacharozy z receptury miała istotny ($p < 0.05$) wpływ na wartości parametru K' , a więc na cechy sprężyste. Wartości tego parametru dla próbek, w których 1/3 lub 2/3 ilości sacharozy zostało zastąpione polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi były istotnie ($p < 0.05$) niższe niż wartości K' wyznaczone dla próby kontrolnej oraz deseru, z którego receptury wyeliminowano całą sacharozę. Podobnie Martinez-Cervera i wsp. [25] zaobserwowali zmniejszenie udziału cech lepkosprężystych w charakterystyce reologicznej niskocukrowego ciasta muffinowego na skutek zastąpienia w nim sacharozy sukralozą z polidekstrozą. Z kolei wpływ modyfikacji receptu-

ry na wartości parametru n' , odzwierciedlającego zależność modułu G' od prędkości kątowej nie był statystycznie istotny ($p > 0.05$). Również parametry opisujące zmiany modułu stratności (G'') deserów na bazie zmodyfikowanej receptury nie różniły się istotnie ($p > 0.05$) od tych charakteryzujących zmiany tego modułu w próbie kontrolnej. Wynika z tego, że zastąpienie sacharozy polidekstrozą nie miało istotnego wpływu na cechy lepkości deserów analizowane w zakresie małych odkształceń. Gałkowska i wsp. [13], badając desery skrobiowe o obniżonej zawartości cukru stwierdzili, że eliminacja sacharozy z układu powoduje znaczne zmiany w wartościach modułów w zależności od rodzaju zastosowanej skrobi. Jednym z kluczowych czynników mających wpływ na charakterystykę lepkosprężystą żywności na bazie wielkocząsteczkowych polimerów jest ich stopień polimeryzacji oraz struktura związana z liniowością łańcuchów lub stopniem ich rozgałęzienia [14].

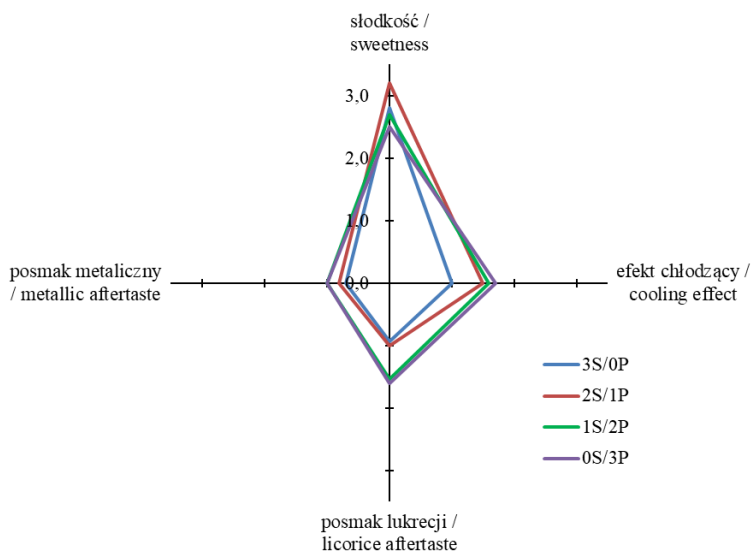
Cechy sensoryczne

Zastąpienie sacharozy substancją intensywnie słodzącą, pomimo zachowania zbliżonej intensywności smaku słodkiego produktu, niesie ze sobą zmiany w całkowitej percepcji smakowości produktu przez konsumenta. Substancje intensywnie słodzące często modyfikują smak słodki, np. poprzez wywoływanie posmaku metalicznego lub lukrecyjowego. Maskowanie tych modyfikacji może być osiągnięte w drodze stosowania mieszanin różnych substancji intensywnie słodzących lub mieszanin substancji intensywnie słodzącej z polioliolami albo z substancjami wypełniającymi. Na rycinie 4A przedstawiono wyniki oceny smakowości badanych deserów. Zbliżoną intensywnością słodkości charakteryzowały się próbki słodzone wyłącznie sacharozą (3S/0P) oraz częściowo glikozydami stewiolowymi (1S/2P). Większą intensywność słodkości stwierdzono dla próbki, w której jedną część sacharozy zastąpiono glikozydami stewiolowymi i polidekstrozą (2S/1P), co może wynikać z synergii pomiędzy zastosowanymi składnikami słodzącymi. Natomiast najmniejszą intensywność słodkości wykazywała próbka słodzona wyłącznie glikozydami stewiolowymi. Wywoływanie efektu chłodzącego w ustach jest charakterystyczne dla produktów słodzonych substancjami intensywnie słodzącymi. Efekt ten był również odczuwalny w przypadku deserów, które w swoim składzie zawierały glikozydy stewiolowe. Wraz ze zwiększającym się udziałem tych substancji słodzących w deserach, intensywność odbieranego wrażenia efektu chłodzącego wzrastała (Ryc. 4A).

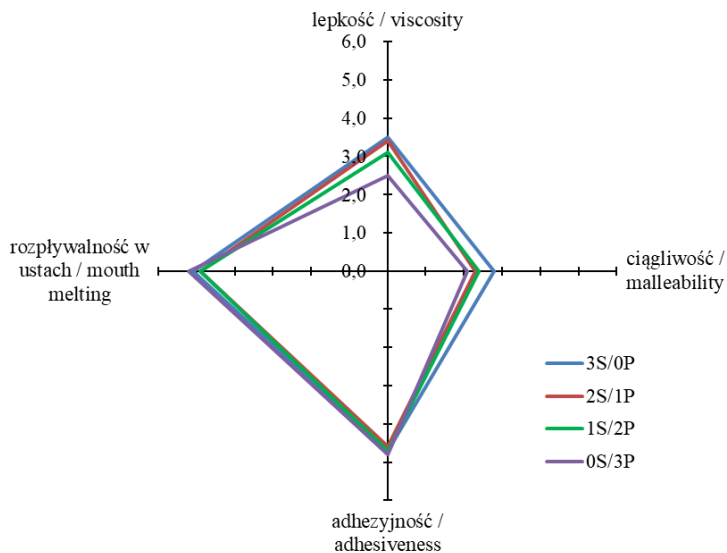
Obecność niektórych substancji intensywnie słodzących w produkcie spożywczym skutkuje nadaniem mu charakterystycznego posmaku metalicznego lub lukrecyjowego (glicyryzyny). W przypadku badanych deserów malejący udział sacharozy w recepturze powodował zwiększenie intensywności zarówno posmaku lukrecji, jak i posmaku metalicznego, przy czym wrażenia te były szczególnie mocno odczuwalne podczas konsumpcji próbek, w których 2/3 ilości sacharozy lub jej całość zastąpiono

mieszaniną glikozydów stewiowych i polidekstrozy (odpowiednio próbki 1S/2P i 0S/3P).

A



B

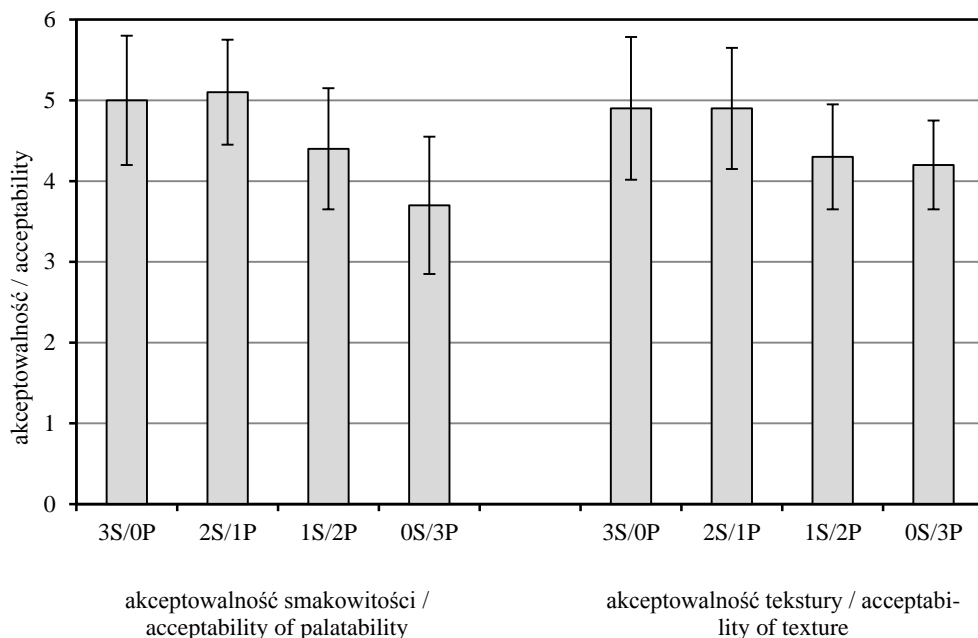


Ryc. 4. Wyniki oceny intensywności wrażeń smakowych (A) i teksturalnych (B) odbieranych podczas analizy sensorycznej deserów

Fig. 4. Results of sensory assessment of the intensity of palatability (A) and textural (B) sensations received during sensory analysis of the desserts

Wpływ zastosowanych modyfikacji receptury deserów mlecznych na ich teksturę zobrazowano na rycinie 4B. Istotnym skutkiem zastąpienia sacharozy glikozydami stewiolowymi i polidekstrozą było zmniejszenie zarówno lepkości, jak i ciągliwości deserów. Zmniejszenie ciągliwości było odczuwalne już w przypadku próbki, w której zredukowano ilość sacharozy tylko o jedną część (2S/1P), natomiast efekt zmniejszenia lepkości był odbierany w przypadku próbek, w których pozostawiono tylko jedną część sacharozy lub wyeliminowano ją całkowicie. Nie stwierdzono istotnych zmian adhezyjności deserów i ich rozpląwalności w ustach na skutek zastąpienia sacharozy glikozydami stewiolowymi i polidekstrozą.

Wyniki oceny akceptowalności zarówno smakowitości, jak i tekstury deserów mlecznych pokazano na rycinie 5. Pomimo braku statystycznie istotnych różnic pomiędzy uśrednionymi wynikami ocen, zauważalny jest następujący trend kształtowania się tych ocen: deser, w którym jedną część sacharozy zastąpiono glikozydami stewiolowymi i polidekstrozą (2S/1P) był akceptowalny pod względem smakowitości i tekstury w takim samym stopniu jak próba kontrolna, słodzona wyłącznie sacharozą. Dopiero desery o bardziej zredukowanej ilości sacharozy (1S/2P i 0S/3P) okazały się mniej akceptowalne przez oceniających. Przyczyną tego zjawiska było, z jednej strony, odbieranie posmaków lukrecyjowego i metalicznego podczas konsumpcji tych deserów (Ryc. 4A), a z drugiej – mniejsza ich lepkość w porównaniu z deserami słodzonymi tylko sacharozą (Ryc. 4B).



Ryc. 5. Akceptowalność smakowitości i tekstury deserów

Fig. 5. Acceptability of the palatability and texture of the desserts

Usunięcie sacharozy z receptury produktu i zastąpienie jej znacznie mniejszą ilością substancji intensywnie słodzącej skutkuje również spadkiem zawartości suchej masy, co w konsekwencji obniża akceptowalność produktu. Martínez-Cervera i wsp. [25] stwierdzili, że całkowite zastąpienie sacharozy sukralozą w muffinach powodowało zmniejszenie akceptowalności wszystkich ocenianych wyróżników sensorycznych, natomiast usunięcie jedynie połowy ilości sacharozy i zastąpienie jej mieszaniną sukralozy z polidekstrozą nie miało istotnego wpływu na charakterystykę sensoryczną produktów. Z kolei Khan i wsp. [19] zaobserwowali, że zastąpienie sacharozy mieszaniną gumy guar z polidekstrozą w recepturze muffin skutkowało zmniejszeniem wysokości gotowych wyrobów, większą ich twardością i większą kruchością, a także mniejszą sprężystością i mniejszą adhezyjnością, natomiast nie wpłynęło istotnie na spójność i sprężystość ocenianych wyrobów. W innych badaniach, Abdou i wsp. [1] uznali, że wprowadzenie polidekstrozy do niskotłuszczowych lodów słodzonych sukralozą lub glikozydami stewiolowymi korzystnie wpływa na ich kremistość i gładkość. Z kolei Srisuvor i wsp. [33] analizując wpływ inuliny lub polidekstrozy na charakterystykę jakościową jogurtów o obniżonej zawartości tłuszczu stwierdzili, że próbki zawierające polidekstrozę wykazywały lepsze cechy sensoryczne w porównaniu z tymi zawierającymi inulinę. Kalicka i wsp. [17] wykazały, że zastąpienie sacharozy glikozydami stewiolowymi w jogurcie powoduje zmniejszenie intensywności słodkiego smaku oraz obniżenie jego ogólnej akceptowalności.

Wnioski

1. Zastąpienie sacharozy mieszaniną polidekstrozy z glikozydami stewiolowymi w recepturze deserów mleczno-skrobiowych nie miało istotnego wpływu na temperaturę kleikowania skrobi w układzie wieloskładnikowym, natomiast przyczyniło się do zmniejszenia lepkości maksymalnej układu podczas ogrzewania.
2. Zastąpienie sacharozy kombinacją glikozydy stewiolowe-polidekstroza w niewielkim stopniu modyfikowało charakterystykę reologiczną deserów mleczno-skrobiowych. Desery wykazywały przepływ nienewtonowski, rozrzedzany ściskaniem oraz właściwości lepkosprężyste, a modyfikacja receptury skutkowała obniżeniem wartości współczynnika konsystencji oraz zmniejszeniem udziału cech sprężystych.
3. Desery mleczno-skrobiowe, w których w większym stopniu lub całkowicie zastąpiono sacharozę polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi w ocenie sensorycznej wywoływały efekt chłodzący i charakteryzowały się posmakiem lukrecji, przy czym wykazywały one słodkość zbliżoną do słodkości deseru słodzonego tylko sacharozą. Modyfikacja receptury deserów nie wpłynęła na adhezyjność oraz rozprężalność w ustach gotowych wyrobów, natomiast przyczyniła się do zmniejszenia ich lepkości i ciągliwości ocenianych metodą analizy sensorycznej.

4. Pomimo braku zróżnicowania statystycznego stwierdzono zmniejszenie akceptowalności zarówno tekstury, jak i smakowitości próbek, w których 2/3 recepturowej ilości sacharozy lub całkowitą jej ilość zastąpiono polidekstrozą i glikozydami stewiolowymi.

Literatura

- [1] Abdou S. M., Shenana M. E., ElNagar G. F., Abd Elatif R. G. Production of low-fat free-sugar ice cream using intensive sweeteners (sucralose and stevia). *Egyptian J. Dairy Sci.* 2022, 69-87.
- [2] Abu-Jdayil B., Mohameed H. A., Eassa A. Rheology of wheat starch–milk–sugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *J. Food Eng.*, 2004, 64, 207-212.
- [3] Ahmad J., Khan I., Blundell R., Azzopardi J., Mahomoodally M. F. *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends Food Sc. Technol.*, 2020, 100, 177-189.
- [4] Basu S., Shivhare U. S., Singh T. V. Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam. *J. Food Eng.* 2013, 114, 465-476.
- [5] Błażnińska I., Jeżewska M., Kulczak M. Koncentraty deserów instant z zamiennymi środkami słodzącymi. *Przem. Spoż.*, 2010, 64 (6), 28-31.
- [6] Do Carmo M. M. R., Walker J. C. L., Novello D., Caselato V. M., Sgarbieri V. C., Ouwehand A. C., Andreollo N. A., Hiane P. A., Dos Santos E. F. Polydextrose: physiological function and effects on health. *Nutrients*, 2016, 8, 553.
- [7] Furlán R. L. T., Campderrós M. E. The combined effects of Stevia and sucralose as sugar substitute and inulin as fat mimetic on the physicochemical properties of sugar-free reduced-fat dairy dessert. *Int. J. Gastron. Food Sci.*, 2017, 10, 16-23.
- [8] Gustaw W., Sołowiej B., Mleko S. Otrzymywanie deserów mlecznych z białek serwatkowych z dodatkiem skrobi i karagenu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 4(45), 100-108.
- [9] Gałkowska D., Długosz M., Juszcak L. Effect of high methoxy pectin and sucrose on pasting, rheological, and textural properties of modified starch systems. *Starch/Stärke*, 2013, 65, 5-6, 499-508.
- [10] Gałkowska D., Juszcak L. Effects of amino acids on gelatinization, pasting and rheological properties of modified potato starches. *Food Hydrocoll.*, 2019, 92, 143-154.
- [11] Gałkowska D., Dudycz A., Juszcak L. Effect of potato protein on thermal and rheological characteristics of maize starches with different amylose contents. *Starch-Stärke*, 2021, 73, #2000216.
- [12] Gałkowska D., Kapuśniak K., Juszcak L. Chemically Modified Starches as Food Additives. *Molecules*, 2023, 28, #7543
- [13] Gałkowska D., Południak M., Juszcak L. Wpływ zastąpienia sacharozy glikozydami stewiolowymi na charakterystykę reologiczną deserów na bazie skrobi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2018, 25, 4 (117), 111-126.
- [14] Gałkowska D., Południak M., Witczak M., Juszcak L. Effect of prebiotic polysaccharides on the rheological properties of reduced sugar potato starch based desserts. *Polymers*, 2020, 12, #2224.
- [15] González-Tomás L., Bayarri S., Coll-Marqués J., Costell E. Flow behaviour of inulin-enriched dairy desserts: influence of inulin average chain length. *Int. J. Food Sci. and Technol.*, 2009, 44, 1214-1222.

- [16] Juszcak L., Witeczak M., Zięba T., Fortuna T. Rheological behaviour of heated potato starch dispersions. *Int. Agrophys.*, 2012, 26, 381-386.
- [17] Kalicka D., Znamirowska A., Buniowska M., Esteve Más M. J., Frigola Canoves A. Effect of stevia addition on selected properties of yoghurt during refrigerated storage. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2017, 32(2), 323-334.
- [18] Kett A. P., Chaurin V., Fitzsimons S. M., Morris E. R., O'Mahony J. A., Fenelon M. A. Influence of milk proteins on the pasting behaviour and microstructural characteristics of waxy maize starch. *Food Hydrocoll.*, 2013, 30, 661-671.
- [19] Khan S., Rustagi S., Singh A. Optimization of composite flour-based sugar-free muffins. *Emergent Life Sci. Res.*, 2022, 8, 2, 31-40.
- [20] Kotebagilu N. P., Umralkar S., Shivanna L. M., Dasappa I., Urooj A. Impact of *Stevia rebaudiana* substitution on physico-chemical characteristics, sensory profile and microstructure in selected Indian desserts. *J. Food Sci. Technol.*, 2022, 59(8), 2992-3001.
- [21] Kowalik J. 2013. Desery mleczne – innowacje produktowe. *Przem. Spoż.*, 67, 10, 2-6.
- [22] Kumar L., Brennan M. A., Mason S. L., Zheng H., Brennan C. S. Rheological, pasting and microstructural studies of dairy protein–starch interactions and their application in extrusion-based products: A review. *Starch/Stärke*, 2016, 68, 1-11.
- [23] Lewandowicz G., Wronkowska M., Sadowska J., Soral-Śmietana M., Błaszczak W., Walkowski A. Influence of potato starch oxidation on texture and rheological behaviour of some sweet desserts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, 12/53, 2, 31-36.
- [24] Łabanowska M., Bidzińska E., Pietrzyk S., Juszcak L., Fortuna T., Błoniarczyk K. Influence of copper catalyst on the mechanism of carbohydrate radicals generation in oxidized potato starch. *Carbohydr. Polym.*, 2011, 85, 4, 775-785.
- [25] Martínez-Cervera S., Sanz T., Salvador A., Fiszman S. M. Rheological, textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with sucralose/polydextrose. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2012, 45, 213-220.
- [26] Matignon A., Neveu A., Ducept F., Chantoiseau E., Barey P., Mauduit S., Michon C. Influence of thermo-mechanical treatment and skim milk components on the swelling behavior and rheological properties of starch suspensions. *J. Food Eng.*, 2015, 150, 1-8.
- [27] Nastaj M., Gustaw W., Sołowiej B. Właściwości reologiczne deserów otrzymanych z białek serwatkowych z dodatkiem różnych substancji słodzących. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 5(54), 283-291.
- [28] Pietrzyk S., Juszcak L., Fortuna T., Ciemniewska A. Effect of the oxidation level of corn starch on its acetylation and physicochemical and rheological properties. *J. Food Eng.*, 2014, 120, 50-56.
- [29] Przybylski W., Sionek B., Jaworska D., Szychalska A., Rupińska M. Wpływ dodatku inuliny na jakość sorbetów owocowych i warzywnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2020, 27, 3(124), 66-76.
- [30] Pycia K., Juszcak L., Gałkowska D., Witeczak M. Physicochemical properties of starches obtained from Polish potato cultivars. *Starch- Stärke*, 2012, 64, 2, 105-114.
- [31] Rozporządzenie Komisji (UE) NR 1131/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do glikozydów stewiolowych. *Dziennik Urzędowy UE L 295/205*.
- [32] Sikora M., Juszcak L., Sady M., Krawontka J. Use of starch/xanthan gum combinations as thickeners of cocoa syrups *Food/Nahrung*, 2003, 47, 2, 106-113.
- [33] Srisuvor N., Chinprahast N., Prakitchaiwattana C., Subhimaros S. Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana purée. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2013, 51, 30-36.

- [34] Sisó I. P. S., Quintana S. E., Zapateiro L. A. G. Stevia (*Stevia rebaudiana*) as a common sugar substitute and its application in food matrices: an updated review. *J. Food Sci. Technol.*, 2023, 60(5), 1483-1492.
- [35] Veena N., Surendra Nath B., Sumit A. Polydextrose as a functional ingredient and its food applications: A review. *Indian J. Dairy. Sci.*, 2016, 69(3), 239-251.
- [36] Yoo D., Yoo B. Rheology of rice starch-sucrose composites. *Starch/Stärke*, 2005, 57(6), 254-261.
- [37] Zander L., Zander Z., Haponiuk E. 2009. Charakterystyki płynięcia deserów skrobiowych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2009, 1, 76-77.

THE EFFECT OF POLYDEXTROSE ON RHEOLOGICAL CHARACTERISTICS AND SENSORY PROPERTIES OF REDUCED SUCROSE STARCH-MILK DESSERTS

S u m m a r y

Introduction. The aim of the study was to assess the impact of replacing sucrose with polydextrose (E 1200) on the rheological characteristics and sensory properties of starch-milk desserts sweetened with steviol glycosides (E 960). The study materials were desserts made of oxidized potato starch (E 1404), skimmed milk powder, curcumin, vanilla flavorsucrose and/or a mixture of polydextrose (E 1200) and steviol glycosides (E 960). As part of the rheological analyses, the pasting characteristics, viscosity curves and mechanical spectra of the desserts were determined. As part of the sensory analysis, palatability and texture were assessed using a quantitative descriptive analysis. The acceptability of the desserts was also assessed.

Results and discussion. Based on the results, it was found that the partial or complete elimination of sucrose from the composition of desserts and replacing it with a mixture of polydextrose and steviol glycosides led to a reduction in their maximum viscosity determined at the heating stage in the pasting test, but did not change the starch pasting temperature. The desserts showed shear-thinning non-Newtonian fluid properties, and the modification of the recipe resulted in a reduction of the consistency coefficient and a reduction in the share of elastic properties without a significant impact on the viscous properties of the system. The desserts in which sucrose was completely, or in a greater degree, replaced with polydextrose and steviol glycosides had a cooling effect and had a licorice aftertaste in the sensory assessment, while retaining sweetness similar to the sweetness of the dessert sweetened with sucrose only. The modification of the dessert recipe did not affect the adhesiveness and mouth melting of the finished products, but contributed to a reduction in their viscosity and malleability assessed by the sensory analysis. Both the texture and palatability of the desserts prepared to the recipe, in which two-third of the amount of sucrose or its total amount was replaced with polydextrose and steviol glycosides, turned out to be less sensorily acceptable than the dessert which did not contain polydextrose.

Key words: desserts, oxidized starch, polydextrose, steviol glycosides, rheological properties, sensory quality ☒

DOMINIKA KACZMAREK, MALWINA WÓJCIK, KAMILA KAPUŚNIAK,
JANUSZ KAPUŚNIAK

ASSESSMENT OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF VEGETABLE AND FRUIT MOUSSES ENRICHED WITH A FIBER PREPARATION FROM POTATO STARCH

S u m m a r y

Background. Vegetable and fruit mousses have become very popular among consumers. These products are a source of complete nutrients, providing the body with vitamins, minerals and dietary fiber. However, the overall fiber content in a single serving of mousse has turned out to be insufficient. The aim of the study was to examine the functional properties of vegetable and fruit mousses before and after enriching them with a fiber preparation from potato starch (SDexF). The research material consisted of three mousse flavors: apple-peach-parsnip, apple-cherry-carrot and apple-carrot-quince. The research included pH measurement, analysis of CIE L*a*b* color parameters and pasting characteristics of vegetable and fruit mousses. The content of total dietary fiber (TDF) in vegetable and fruit mousses was also determined using the enzymatic-gravimetric AOAC 991.43. method.

Results and conclusion. The addition of SDexF resulted in a slight decrease in the pH of the apple-cherry-carrot mousse. For each flavor, a change in color was observed, with the largest difference in color parameters (ΔE) observed in the apple-carrot-quince flavored mousse. The vegetable and fruit mousses enriched with SDexF were characterized by a higher total fiber content compared to the unenriched mousses. The preserves with the addition of SDexF were characterized by lower pasting parameters compared to the control mousses. Based on the functional tests being carried out, no negative impact of the enriching of vegetable and fruit mousses with SDexF on the final product was observed. It can therefore be concluded that the use of SDexF affects the functional properties of vegetable and fruit mousses, increasing their nutritional and health value.

Keywords: vegetable and fruit mousses, dietary fiber, food enrichment, potato starch

Introduction

In recent times, there has been a growing interest among consumers in food having functional properties. As the nutritional knowledge of society expands, there is also

Mgr D. Kaczmarek ORCID: 0009-0006-3525-2496, mgr M. Wójcik ORCID 0009-0002-3115-0952, dr K. Kapuśniak ORCID: 0000-0002-8360-8446, prof. dr hab. J. Kapuśniak ORCID: 0000-0003-2592-5512, Katedra Dietetyki i Badań Żywności, Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych, Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie, ul. Waszyngtona 4/8 42-200 Częstochowa. Kontakt: j.kapusniak@ujd.edu.pl

an increasing interest in food products that not only serve a nutritional function but additionally demonstrate beneficial effects on the effective functioning of the body [22].

One of the many bioactive components having a positive impact on human health is dietary fiber. Numerous studies indicate that consuming an adequate amount of fiber contributes to the prevention of cardiovascular diseases and reduces the risk of obesity, diabetes, cancer and gastrointestinal diseases [15]. However, the amount of dietary fiber typically consumed in the daily diet is often inadequate [24]. Therefore, there is a necessity for innovative products with higher nutritional and health values, which can be obtained by adding dietary fiber [7].

Consuming fruit and vegetables, as well as products made from them, is the basis of a balanced diet [9]. Vegetable and fruit preserves, due to frequent consumption, can be excellent products for enrichment with bioactive ingredients [25]. Currently, the key task of the fruit and vegetable industry is to design innovative products that display high quality and ensure safety [28].

An increasing number of vegetable and fruit processed products, such as mousses, are appearing on store shelves. These products represent an innovative area in the field of healthy nutrition, combining not only flavorful combinations but also being nutrient-rich. In recent years, mousses have gained immense popularity as a healthier alternative to traditional preserves such as jams [30].

Mousses are food products obtained through minimal processing of fruit and vegetables, which makes them a valuable source of antioxidants [30]. The mousse production process typically involves crushing raw materials, which are then mixed and subjected to thermal processing to achieve the desired consistency [26]. Mousses can be prepared from various combinations of fruit and vegetables. Based on a review of the vegetable and fruit mousse market, it can be concluded that the types of fruit which are the most commonly used for the production of such products are apples, bananas, pears and mangoes. As for vegetables, they include carrots, beets and pumpkins. Vegetable and fruit mousses contain dietary fiber in their composition. However, an analysis of products available on the Polish market indicates that the total fiber content in one serving of a product is insufficient [20]. Examples of the flavors of vegetable and fruit mousses along with fiber content (per 100 g of product) available on the Polish market are presented in Table 1.

At the Jan Długosz University in Czestochowa, a project titled "Development and implementation of an innovative technology for the production of new generation vegetable and fruit products enriched with a fiber preparation from potato starch with prebiotic properties intended for children and adolescents" (with the acronym PreST-Fibre4kids) was implemented. The project was carried out in cooperation between JDU and: Tymbark MWS Sp. z o. o., the Children's Memorial Health Institute, the Faculty

of Biotechnology and Food Sciences of the Lodz University of Technology and the Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology. The aim of the project was to use a patent-protected fiber preparation from potato starch with prebiotic properties [19] for the purpose of creating innovative vegetable and fruit products without added sugars, intended for consumption by children and adolescents. The resulting products can be classified as functional food, as fortifying daily diet with dietary fiber and prebiotic preparations may contribute to preventing overweight and obesity [16].

Table 1. Examples of flavors of vegetable and fruit mousses along with fiber content (g/100 g of product) available on the Polish market (presented in ascending order, i.e. from the lowest to the highest content of dietary fiber)

Tabela 1. Przykładowe smaki musów warzywno-owocowych wraz z zawartością błonnika (g/100 g produktu) dostępne na polskim rynku (ułożone od najmniejszej do największej zawartości błonnika pokarmowego)

Mousse taste / Smak musu	Brand name / Nazwa handlowa	Fiber content / Zawartość błonnika [g/100 g]
apple-blueberry-black carrot / jabłko-borówka-czarna marchew	Freche Freunde	0.9
apple-green peas-fennel-broccoli / jabłko-zielony groszek-koper włoski-brokół	Kubuś Baby	1.4
apple-peach-pumpkin / jabłko-brzoskwinia-dynia	BoboVita	1.5
apple-banana-cherry-beetroot / jabłko-banan-wiśnia-burak	Hortex	1.5
apple-blackcurrant-beetroot / jabłko-czarna porzeczka-burak	Kubuś Baby	1.7
zucchini-spinach-kiwi-apple-banana / cukinia-szpinak-kiwi-jabłko-banan	Dawtona	1.7
apple-beetroot-strawberry / jabłko-burak-truskawka	Tymbark	1.8
apple-pear-spinach / jabłko-gruszka-szpinak	Babydream	2.2
carrot-mango-apple / marchew-mango-jabłko	Dawtona	2.4
apple-pumpkin-carrot / jabłko-dynia-marchew	Kubuś Baby	2.5
apple-pear-white carrot-parsnip-banana / jabłko-gruszka-biała marchew-pasternak-banan	Tymbark	2.7

Obesity affects an increasing part of society, including children and adolescents [31]. Currently, combating excess body weight is one of the most serious global health challenges. The prevalence of obesity has significantly increased over the last decade, as a result of which it has been called the 21st-century epidemic [13]. Fundamental

causes of obesity include the consumption of excessive calories and insufficient physical activity, leading to inadequate energy expenditure [18]. In recent times, there has been a growing recognition of the connection between gut microbiota and obesity [8]. Research indicates that the gut microbiota of obese individuals is characterized by lower abundance and diversity of beneficial bacteria, with a predominance of pathogenic microorganisms. It is acknowledged that the *Firmicutes* to *Bacteroidetes* (F/B) ratio plays a crucial role in maintaining gut homeostasis [27]. In individuals with excess adipose tissue, there is a lower quantity of *Bacteroides* bacteria and an abundance of *Firmicutes* compared to lean individuals. As a result of tests carried out on the feces of obese children, it was found that a fiber preparation from potato starch stimulated the growth of *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* and reduced *Firmicutes* [4].

One of the factors influencing the state of gut microbiota is the dietary pattern. Therefore, it is advisable to supplement meals with prebiotic and probiotic products [1].

The aim of this study was to examine the functional properties of vegetable and fruit mousses before and after enriching them with a dietary fiber preparation having prebiotic properties from potato starch.

Material and methods

Materials

The research material included three vegetable and fruit mousses to which a dietary fiber preparation from potato starch (SDexF) was added and three without the addition of that preparation. The mousses were produced by Tymbark MWS Sp. z o.o. (Poland) as part of the PreSTFibre4kids project. The production of SDexF on a semi-industrial scale was carried out using specially designed equipment at the Jan Długosz University in Czeszochowa. The fiber preparation was obtained according to the patent [19]. Briefly, 10 kg of potato starch was sprayed with hydrochloric and citric acid at the final concentration of 0.1 % of each acid, mixed mechanically while spraying/heating at 55/75 Hz, dried at 110 °C to the moisture content below 5 %, and finally heated at 130 °C for 4h. Three flavors of the vegetable and fruit mousses were analyzed: apple-peach-parsnip (APP), apple-cherry-carrot (ACC) and apple-carrot-quince (ACQ), as well as their enriched counterparts (APP+, ACC+ and ACQ+). All the analyzed mousses underwent the pasteurization process. The research material comprised a total of six samples of mousses, as presented in Figure 1.

pH measurement

The measurement was performed using a SevenCompact TM S210 pH meter (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland). The mousses were put into beakers. Subse-

quently, the pH meter was calibrated and the measurement was made by placing an electrode in a beaker containing the analyzed vegetable and fruit mousse. For each sample, pH was determined three times, and then the arithmetic mean and standard deviation were calculated.

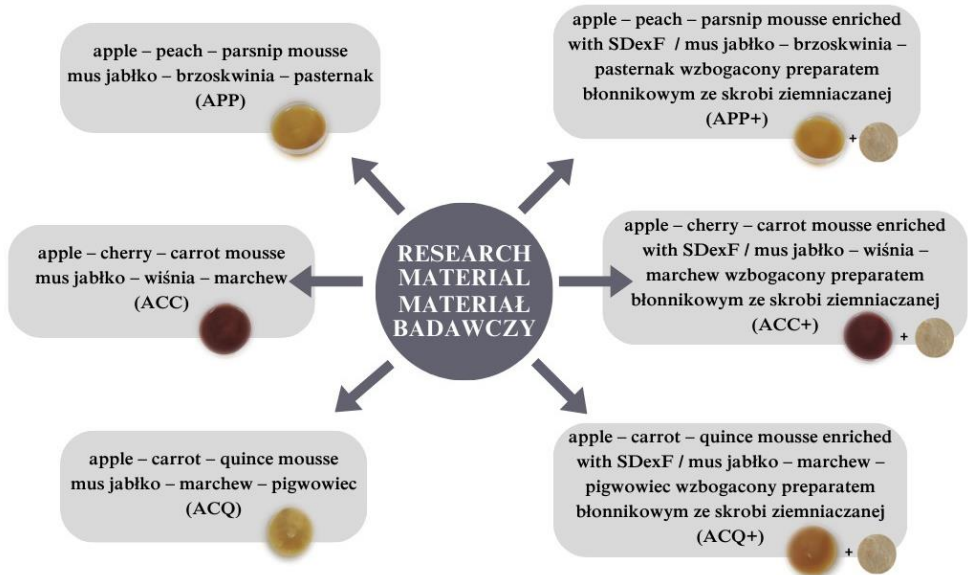


Fig. 1. Research material

Rys. 1. Materiał badawczy

Analysis of color parameters

The color of vegetable and fruit mousses was assessed using the Chroma Meter CR-400 colorimeter (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) relative to the standard illuminant D65. CIE $L^*a^*b^*$ color parameters were recorded as L^* - brightness, a^* - green (-)/red (+) balance and b^* - blue (-)/yellow (+) balance. For each sample, ten independent measurements were performed. Subsequently, the arithmetic mean of the $L^*a^*b^*$ parameters, standard deviation and color differences (ΔE) between the same flavors of mousses with and without the addition of the fiber preparation were calculated. The total color difference (ΔE) was computed using the following equation:

$$\Delta E = [(L^*_2 - L^*_1)^2 + (a^*_2 - a^*_1)^2 + (b^*_2 - b^*_1)^2]^{1/2}$$

Explanatory notes / objaśnienia:

1 - means values for vegetable and fruit mousses without the addition of fiber preparation from potato starch; 2 - means values for vegetable and fruit mousses with the addition of fiber preparation from potato starch;

1 - oznacza wartości dla musów warzywno-owocowych bez dodatku preparatu błonnikowego ze skrobi ziemniaczanej; 2 - oznacza wartości dla musów warzywno-owocowych z dodatkiem preparatu błonnikowego ze skrobi ziemniaczanej.

Determination of total dietary fiber content (TDF)

The total dietary fiber (TDF) was determined using the enzymatic-gravimetric method AOAC 991.43. [3] with the use of enzymatic assay for determining total dietary fiber from Megazyme International Ltd. (Wicklow, Ireland). To achieve this, vegetable and fruit mousses were subjected to a water removal process by placing them in a LyoQuest -55 freeze dryer (Telstar, Azbil, Japan) at a temperature of -50 °C for approximately two days. Freeze-dried mousses of 1 g were dissolved in the MES-TRIS buffer solution and then subjected to enzymatic digestion using thermostable α -amylase, protease and amyloglucosidase. An appropriate amount of ethyl alcohol was added to the hydrolyzate in order to precipitate water-soluble fibers (the volumetric ratio of ethyl alcohol to the volume of the hydrolyzate should be 4:1). In the next stage, the resulting sediment was filtered through a Gooch-type glass crucible of known mass. The residue remaining in the crucible was washed twice with 78 % and 95 % ethanol and once with acetone. The crucibles with the remaining sediment were left overnight in an oven at 103 °C and then weighed. After taking into account the protein and ash content, the total dietary fiber content in the freeze-dried vegetable and fruit mousses was calculated. The analysis was performed three times for each tested sample.

Effect of temperature on the apparent viscosity of mousses

The viscosity of vegetable and fruit mousses was measured using a rotational viscometer RVA 4500 (Perten Instruments, Hägersten, Sweden). A 25 g sample of each mousse was weighed into a measuring vessel. Subsequently, the vessel with the analyzed sample was placed in the heating mantle of the viscometer. A 15-minute temperature profile was used to measure changes in viscosity during heating and cooling. Initially, the suspensions were adjusted to a temperature of 25 °C for a period of 1 minute. Subsequently, heating continued, with temperature being raised from 25 to 95 °C at a rate of 14 °C/min and then at 95 °C for 3 minutes. The next step entailed cooling to 25 °C at the identical rate, and finally, equilibration at 25 °C for 1 minute. During the first 10 seconds of the mixing process, a speed of 960 rpm was reached and then reduced to 160 rpm for the rest of the measurement. Viscosity measurement was performed three times for each sample. Based on the measurement, the following parameters were determined: peak viscosity (PV), hot sample viscosity (HPV), breakdown (BD = PV - HPV), final viscosity (FV) and setback (SB = FV - HPV).

Statistical analysis

Each measurement was performed at least three times. Next, an analysis of variance was performed. Means were compared using the Duncan's new multiple range test ($p < 0.05$). The values of the analyzed variables were presented as mean \pm standard deviation. The results were statistically analyzed using Statistica 13.3 software (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Results and discussion

pH of vegetable and fruit mousses

The pH index is an important parameter determining the quality and freshness of vegetable and fruit products. The pH values of vegetable and fruit mousses without and with the addition of SDexF are shown in Figure 2. The acidity of all the tested vegetable and fruit products ranged from 3.32 to 3.80.

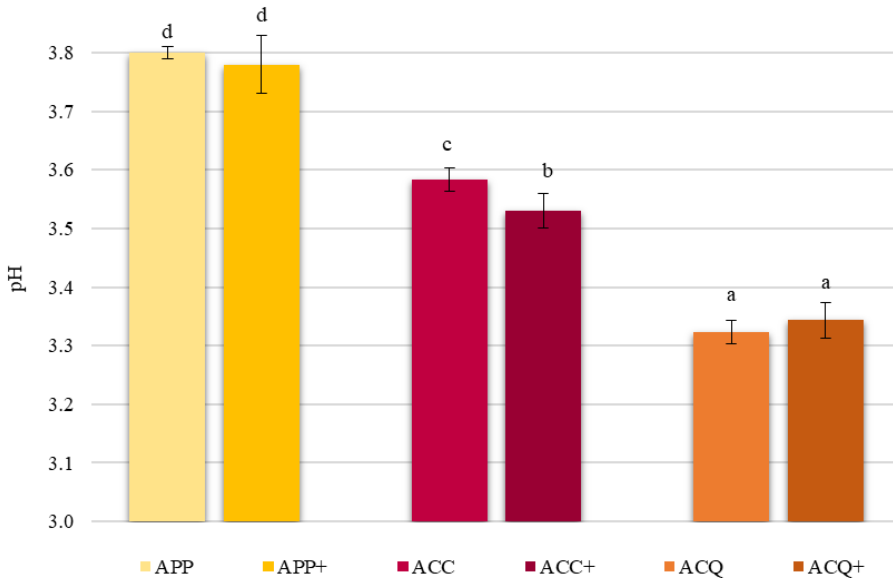


Fig. 2. pH values of vegetable and fruit mousses

Rys. 2. Wartości pH musów warzywno-owocowych

Explanatory notes / objaśnienia:

The figure shows mean values \pm standard deviations. Variants: APP (apple – peach – parsnip mousse); APP+ (apple – peach – parsnip mousse enriched with SDexF); ACC (apple – cherry – carrot mousse); ACC+ (apple – cherry – carrot mousse enriched with SDexF); ACQ (apple – carrot – quince mousse); ACQ+ (apple – carrot – quince mousse enriched with SDexF). Statistically different pH values ($p < 0.05$) for individual mousses are marked with different letters. /

Na rysunku przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe. Warianty: APP (mus jabłko – brzoskwinia – pasternak); APP+ (mus jabłko – brzoskwinia – pasternak wzbogacony preparatem blonni-

kowym ze skrobi ziemniaczanej); ACC (mus jabłko – wiśnia – marchew); ACC+ (mus jabłko – wiśnia – marchew wzbogacony preparatem błonnikowym ze skrobi ziemniaczanej); ACQ (mus jabłko – marchew – pigwowiec); ACQ+ (mus jabłko – marchew – pigwowiec wzbogacony preparatem błonnikowym ze skrobi ziemniaczanej). Wartości różniące się statystycznie ($p < 0,05$) dla poszczególnych musów oznaczono różnymi literami.

The apple-cherry-carrot flavored mousse with the addition of SDexF (ACC+) was characterized by a statistically significantly lower pH value compared to the unenriched mousse (ACC). In the case of the remaining two flavors of mousses, no significant differences were observed. The range of permissible pH values for the tested mousses is not prescribed by legal regulations. Active acidity values depend primarily on raw materials used in production. Preserves containing only fruit have lower pH values compared to products consisting only of vegetables. Differences in pH parameters are also observed in the case of individual varieties of fruit and vegetables [23]. The highest pH value was demonstrated by the unenriched mousse consisting of apples, peaches and parsnips (APP). However, the apple, carrot and quince flavored mousse (ACQ) had the lowest pH level. This may be due to the fact that quince fruit has low general acidity and the pH of quince pulp is 3.43 [2]. The pH value may also be influenced by biochemical reactions taking place. The pasteurization process allows to inhibit these changes and consolidate the finished product, thus maintaining its durability and freshness for longer.

Analysis of color parameters

The color of food products is influenced by the chemical composition, physical state and structure of food [29]. Table 2 presents individual color parameters of vegetable and fruit mousses. The use of SDexF had a significant impact on the $L^*a^*b^*$ color parameters of the vegetable and fruit mousses. It was observed that colors changed, being darker, in the case of each mousse flavor with the addition of SDexF, as the L^* value responsible for lightness decreased. In the APP, APP+, ACC, ACC+ mousses, a^* values were positive, which indicated the affinity of the mousses for the red color. However, the addition of SDexF to the apple-carrot-quince mousse (ACQ) caused a change in affinity from slightly green to lightly red. In turn, the b^* values of all the analyzed mousses were positive, which had a significant impact on the share of yellow color. The color change could be caused by high temperature during the pasteurization process of the mousses, during which a non-enzymatic browning reaction probably occurred due to sugar caramelization and Maillard reactions [17]. The color modification could also result from light scattering by the particles of the fiber preparation and its natural hue (slightly beige-yellow), as indicated by research conducted by Figueroa and Genovese [12].

Table 2. CIE L*a*b* color parameters of the analyzed vegetable and fruit mousses

Tabela 2. Parametry barwy CIE L*a*b* analizowanych musów warzywno-owocowych

Sample code / Kod próbki	L*	a*	b*	ΔE
APP	45.29 ^f ± 0.41	3.31 ^c ± 0.08	19.11 ^e ± 0.53	2.33
APP+	43.10 ^d ± 0.09	4.11 ^d ± 0.08	19.24 ^e ± 0.17	
ACC	32.80 ^b ± 0.05	9.03 ^f ± 0.05	6.06 ^b ± 0.05	1.33
ACC+	32.20 ^a ± 0.04	8.24 ^e ± 0,08	5.53 ^a ± 0.06	
ACQ	44.23 ^e ± 0.22	-0.60 ^a ± 0.08	12.35 ^d ± 0.32	4.60
ACQ+	39.98 ^c ± 0.13	1.02 ^b ± 0.17	11.70 ^c ± 0.43	

Explanatory notes as in Fig. 2. / Objasnienia jak na Rys. 2.

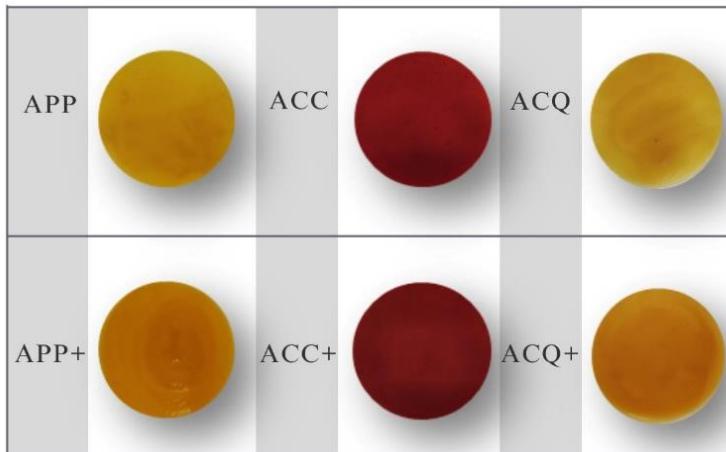


Fig. 3. Color of vegetable and fruit mousses without and with the addition of SDexF

Rys. 3. Barwa musów warzywno-owocowych bez i z dodatkiem preparatu błonnikowego ze skrobi ziemniaczanej

Explanatory notes as in Fig. 2. / Objasnienia jak na Rys. 2.

The color difference (ΔE) of individual mousse flavors was calculated to characterize the variability of color parameters. The apple-cherry-carrot mousse enriched with SDexF (ACC+) was characterized by the smallest color difference compared to the unenriched mousse, which was 1.33. However, the highest color contrast was observed in the apple-carrot-quince flavored mousse, as (ΔE) was 4.6. When ΔE is below

3, differences in color parameters are visible to humans mainly when products are next to each other, which can be seen in Fig. 3.

Taking into account the results obtained, it can be concluded that, most of all, the addition of SDexF caused changes in the mousse colors, which became darker. In a study conducted by Igual et al. [17], it was also shown that fruit jams enriched with fiber showed color differences compared to traditional preserves. Mousses are most often packed in tubes. Their color, as well as the color difference (ΔE), is not the most important parameter for consumers when they make a choice.

Total dietary fiber content (TDF) in vegetable and fruit mousses

The total content of dietary fiber in 100 g of vegetable and fruit mousses, measured using the enzymatic-gravimetric method AOAC 991.43, is shown in Figure 4. The AOAC 991.43 method is commonly used for declaring total dietary fiber on food labels in both the United States and the European Union [6]. However, this method has certain limitations because it allows for the determination of only high-molecular fractions resistant to enzymatic digestion. Therefore, the results obtained do not take into account low molecular weight dietary fiber particles soluble in ethanol [11].

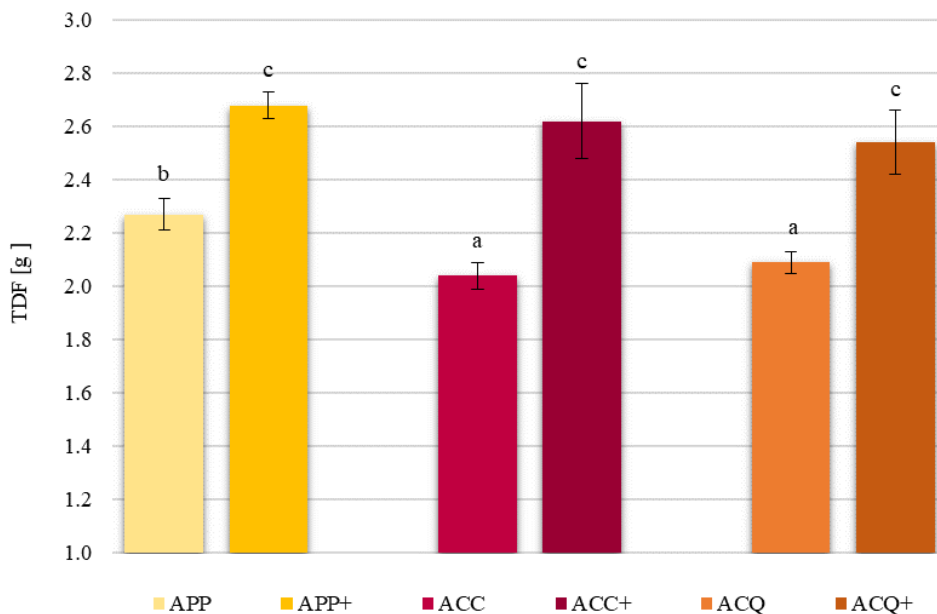


Fig. 4. Total dietary fiber content [g] in 100 g of vegetable and fruit mousses

Rys. 4. Całkowita zawartość błonnika pokarmowego [g] w 100 g musów warzywno-owocowych

Explanatory notes as in Figure 2. / objaśnienia jak na Rys. 2

All the vegetable and fruit mousses enriched with SDexF were characterized by a comparable total dietary fiber content. Taking into account the amounts of fiber in the samples of the unenriched products, the mousse containing apple, peach and parsnip (APP) had the highest total fiber content. This may be due to the presence of parsnip. This raw material is a valuable source of dietary fiber, as its amount in 100 g of this vegetable is approximately 4.9 g [10].

The greatest differences in fiber content before and after enriching vegetable and fruit mousses were observed in the case of the apple-cherry-carrot (ACC) and apple-carrot-quince (ACQ) flavors. Whereas, the smallest was observed for the mousse containing apple, peach and parsnip (APP). These differences may result from numerous interactions that occur between dietary fiber and other bioactive ingredients present in such products as polyphenols [14].

The results obtained suggest that the addition of SDexF to vegetable and fruit mousses increases the total dietary fiber content in these products. Research conducted by Belovic et al. [5] also demonstrated that enriching apricot jam with tomato pomace resulted in an increase in the dietary fiber content compared to the traditional jam. Kosiorowska et al. [21] also reported that cranberry jams with the addition of flax and chia seeds contained a significantly higher TDF content compared to the control jam.

At a further stage of the research, it is also planned to determine the total dietary fiber content of vegetable and fruit mousses using the integrated enzymatic-gravimetric-chromatographic method AOAC 2009.01, 2011.25. or 2017.16. These methods are more accurate because they additionally allow for the determination of low molecular weight fractions of dietary fiber, as a result of which even higher values of dietary fiber can be expected in enriched vegetable and fruit mousses [11].

Effect of temperature on the apparent viscosity of mousses

After a visual assessment of the vegetable and fruit mousses, it could be concluded that the products with the addition of SDexF were characterized by a more uniform structure and seemed more liquid. The results obtained, concerning the pasting characteristics of the vegetable and fruit mousses measured using RVA, presented in Figure 5, confirm a significant reduction in viscosity in each of the enriched mousses compared to the control mousse. Table 3 shows the pasting parameters of vegetable and fruit mousses. For each type of the enriched mousse, a reduction in all pasting parameters was observed compared to the control mousse. The exception were the BD and SB parameters, which retained similar values for one type of the mousses (APP and APP+). The maximum viscosity of the mousses was observed at a temperature of 25°C during the first minute of mixing. The greatest differences in peak viscosity between the control and enriched mousses were recorded in the case of apple-carrot-quince flavored mousse.

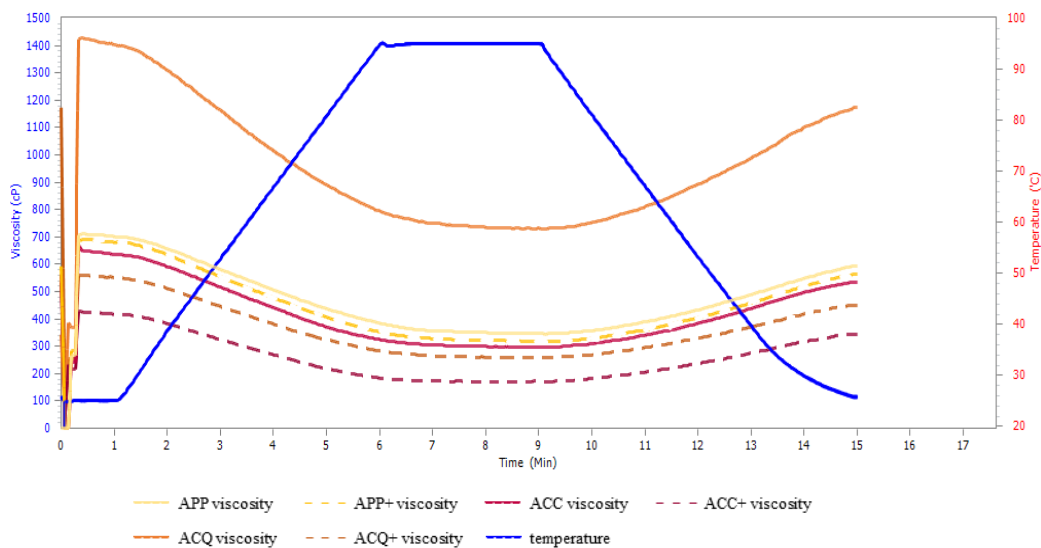


Fig. 5. Effect of temperature on apparent viscosity of vegetable and fruit mousées without and with the addition of SDexF

Rys. 5. Wpływ temperatury na lepkość pozorną musów warzywno-owocowych bez i z dodatkiem preparatu błonnikowego ze skrobi ziemniaczanej

Explanatory notes as in Figure 2. / objaśnienia jak na Rys. 2

Table 3. Parameters characterizing the effect of temperature on apparent viscosity of vegetable and fruit mousées

Tabela 3. Parametry charakteryzujące wpływ temperatury na lepkość pozorną musów warzywno-owocowych

Sample code / Kod próbki	PV (mPas)	HPV (mPas)	BD = PV-HPV (mPas)	FV (mPas)	SB = FV - HPV (mPas)
APP	713 ^e ±17	355 ^e ±13	359 ^d ±4	609 ^e ±21	254 ^d ±7
APP+	676 ^d ±8	317 ^d ±0	359 ^d ±8	565 ^d ±2	248 ^d ±2
ACC	625 ^c ±16	291 ^c ±6	334 ^c ±10	529 ^c ±7	238 ^c ±1
ACC+	412 ^a ±8	168 ^a ±3	244 ^a ±5	344 ^a ±1	176 ^a ±1
ACQ	1400 ^f ±2	723 ^f ±10	677 ^e ±8	1164 ^f ±13	441 ^e ±3
ACQ+	548 ^b ±6	257 ^b ±2	292 ^b ±4	451 ^b ±1	194 ^b ±1

Explanatory notes / objaśnienia:

PV (peak viscosity), HPV (hot paste viscosity), BD (breakdown = PV-HPV), FV (final viscosity), SB (setback = FV-HPV). The figure shows mean values ± standard deviations. Statistically different ($p < 0.05$) for individual mousées are marked with different letters. /

PV (lepkość maksymalna podczas ogrzewania), HPV (najniższa lepkość w temperaturze 95°C), BD (spadek lepkości przy ogrzewaniu = PV-HPV), FV (lepkość końcowa), SB (wzrost lepkości w trakcie chłodzenia = FV-HPV). Na rysunku przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe. Różnice statystyczne ($p < 0,05$) dla poszczególnych musów oznaczono różnymi literami.

The lower viscosity of the enriched mousses, while maintaining the shape of the gelatinization curve, does not seem to be a problem that could be negatively perceived by consumers, unlike the increase in viscosity. Moreover, no significant segregation processes of ingredients were observed. The results clearly indicate the technological possibility of the addition of fiber preparation with no adverse effect on its consistency. Lower viscosity may be the result of better dispersion of ingredients in the mousse, which may be important for the consistency and quality of the final product. A very low viscosity ingredient was also added to the mousse, hence the viscosity of the enriched mousse was reduced. The results obtained were consistent with the results of the research conducted by Kapuśniak et al. [20].

Conclusions

The article examines for the first time the functional properties of vegetable and fruit mousses industrially enriched by a food manufacturer with a fiber preparation from potato starch. Based on the research conducted, the following conclusions can be drawn and final statements can be made:

1. Adding SDexF to vegetable and fruit mousses affects various sensory and physico-chemical parameters. Although the reduction in pH is minimal, the change in color, increase in total fiber content and reduction in viscosity may be important aspects.
2. Based on the functional tests carried out, it was not observed that enriching vegetable and fruit mousses with SDexF had a negative impact on the final product.
3. It can therefore be concluded that the addition of SDexF affects the functional properties of vegetable and fruit mousses, improving their nutritional and health value.
4. There is a need to conduct further research, including the determination of low molecular weight fiber fractions and a more comprehensive characterization of enriched mousses.
5. The emergence of innovative sources of dietary fiber offers new possibilities for their use in the food industry.

The study was financed as part of the NCBiR project, grant no. POIR.04.01.02-00-0102/17-00 (PreSTFibre4kids), supervised by prof. dr hab. Janusz Kapuśniak.

Literatura

- [1] Ahmad J., Khan I., Zengin G., Mahomoodally M.F.: The gut microbiome in the fight against obesity: The potential of dietary factors, *The FASEB Journal*, 2023, 37(11), #23258.
- [2] 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(1), #133362.

- [3] AOAC Official Method 991.43.: Total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods. In: Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Cunniff P. (ed.). Gaithersburg, 1999, AOAC International, Chapter 32: pp: 7-9.
- [4] Barczyńska R., Śliżewska K., Litwin M., Szalecki M., Żarski A., Kapuśniak J.: The effect of dietary fibre preparations from potato starch on the growth and activity of bacterial strains belonging to the phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria*, *J. Funct. Foods*, 2015, 19: 661-668.
- [5] Belović M., Torbica A., Pajić-Lijaković I., Mastilović J.: Development of lowcalorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace, *Food Chem.*, 2017, 237(15): 1226-1233.
- [6] Birt D.F., Boylston T., Hendrich S., Jane J.L., Hollis J., Li L., McClelland J., Moore S., Phillips G.J., Rowling M., Schalinske K., Scott M.P., Whitley E.M.: Resistant starch: promise for improving human health, *Adv. Nutr.*, 2013, 4:587-601.
- [7] Brandl B., Rennekamp R., Reitmeier S., Pietrynik K., Dirndorfer S., Haller D., Hofmann T., Skurk T., Hauner H.: Offering Fiber-Enriched Foods Increases Fiber Intake in Adults With or Without Cardiometabolic Risk: A Randomized Controlled Trial, *Front. Nutr.*, 2022, #9.
- [8] Cho K.Y.: Association of gut microbiota with obesity in children and adolescents, *Clin. Exp. Pediatr*, 2023, 66(4), 148-154.
- [9] del Río-Celestino M., Font R.: The Health Benefits of Fruits and Vegetables, *Foods*, 2020, 9(3), #369.
- [10] Dhingra D., Michael M., Rajput H., Patil R. T.: Dietary fibre in foods: a review, *J. Food Sci. Technol.*, 2012, 49(3), 255-266.
- [11] Ferjančič B., Skrt M., Korošec M., Bertoneclj J.: Comparative analysis of dietary fibre determination by AOAC 991.43 and AOAC 2011.25 for frequently consumed foods in Slovenia, *Food Chem.*, 2022, 397(15), #133753.
- [12] Figueroa L.E., Genovese D.B.: Fruit jellies enriched with dietary fibre: Development and characterization of a novel functional food product, *LWT-Food Sci. Technol.*, 2019, 111, 423–8.
- [13] Gato-Moreno M., Martos-Lirio M.F., Leiva-Gea I., Bernal-López M.R., Vegas-Toro F., Fernández-Tenreiro M.C., López-Siguero J.P.: Early Nutritional Education in the Prevention of Childhood Obesity, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, 18(12), #6569.
- [14] González-Aguilar G.A., Blancas-Benitez F.J.: Sáyago-Ayerdi S.G., Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility, *Curr. Opin. Food Sci.*, 2017, 13, 84-88.
- [15] He Y., Wang B., Wen L., Wang F., Yu H., Chen D., Su X., Zhang C.: Effects of dietary fiber on human health, *Food Sci. Hum. Wellness*, 2022, 11(1), 1-10.
- [16] Hume M.P., Nicolucci A. C., Reimer R. A.: Prebiotic supplementation improves appetite control in children with overweight and obesity: a randomized controlled trial, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2017, 105(4), 790-799.
- [17] Igual M., Contreras C., Martínez-Navarrete N.: Colour and rheological properties of non-conventional grapefruit jams: Instrumental and sensory measurement, *LWT-Food Sci. Technol.*, 2014, 56, 200–206.
- [18] Jebeile H., Kelly A.S., O'Malley G., Baur L.A.: Obesity in children and adolescents: epidemiology, causes, assessment, and management, *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2022, 10(5), 351-365.
- [19] Jochym K., Kapuśniak J., Barczyńska R., Libudysz Z., Śliżewska K.: Preparat o właściwościach prebiotycznych (Preparation with prebiotic properties) PL 220965 (2015). (Polish patent)
- [20] Kapuśniak K., Wójcik M., Wróbel K., Rosicka-Kaczmarek J., Kapuśniak J.: Assessment of physico-chemical and thermal properties of soluble dextrin fiber from potato starch for use in fruit mousses, *J. Sci. Food Agric.*, 2021, 101, 4125-4133.

- [21] Kosiorowska A., Pietrzyk S., Pająk P., Socha R.: The effect of the addition of gold flax (*Linum usitatissimum* L.) and chia seeds (*Salvia hispanica* L.) on the physicochemical and antioxidant properties of cranberry jams, *Eur. Food Res. Technol.*, 2022, 248: 2865-2876.
- [22] Martirosyan D., Kanya H., Nadalet C.: Can functional foods reduce the risk of disease? Advancement of functional food definition and steps to create functional food products, *Funct. Food Health Dis.*, 2021, 11(5), 213-221.
- [23] Nabrdalik M., Świsłowski P.: Ocena mikrobiologiczna niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych, *Proc. ECOpole*, 2017, 11(2), 541-551.
- [24] O'Keefe S.J.D.: The Need to Reassess Dietary Fiber Requirements in Healthy and Critically Ill Patients, *Gastroenterol Clin. North Am.*, 2018, 47(1), 219-229.
- [25] Olson R., Gavin-Smith B., Ferraboschi C., Kraemer K.: Food Fortification: The Advantages, Disadvantages and Lessons from Sight and Life Programs, *Nutrients*, 2021, 13(4), #1118.
- [26] Stankiewicz J., Płotka P.: Evaluation of Selected Microbiological Quality Parameters of Fruit Mousses, *SJ GMU*, 2019, 1(110), 32-39.
- [27] Stojanov S., Berlec A., Štrukelj B.: The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease, *Microorganisms*, 2020, 8, #1715.
- [28] Tylewicz U., Tappi S., Nowacka M., Wiktor A.: Safety, Quality, and Processing of Fruits and Vegetables, *Foods*, 2019, 8(11), #569.
- [29] Zhang L., Ren J., Zhang Y., Li J., Liu Y., Guo Z., Yang Z., Pan S., Fan G., Effects of modified starches on the processing properties of heat-resistant blueberry jam, *LWT - Food Sci. Technol.*, 2016, 72, 447-456.
- [30] Zmudzińska A., Puścion-Jakubik A., Soroczyńska J., Socha K.: Evaluation of Selected Antioxidant Parameters in Ready-to-Eat Food for Infants and Young Children, *Nutrients*, 2023, 15(14), #3160.
- [31] Żuraw D., Oleksa P., Sobczyk M., Jasiński K.: Simple Obesity in Children, *Prosp. Pharm. Sc.*, 2023, 21(2), #62-67.

OCENA WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNYCH MUSÓW WARZYWNO-OWOCOWYCH WZBOGACONYCH PREPARATEM BŁONNIKOWYM ZE SKROBI ZIEMNIACZANEJ

Streszczenie

Wprowadzenie: Musy warzywno-owocowe cieszą się dużym zainteresowaniem wśród konsumentów. Produkty te stanowią źródło pełnowartościowych składników odżywczych, dostarczając organizmowi witaminy, składniki mineralne oraz błonnik pokarmowy. Niemniej jednak, ogólna zawartość błonnika w pojedynczej porcji musu okazuje się niewystarczająca. Celem pracy było zbadanie właściwości funkcjonalnych musów warzywno-owocowych przed i po wzbogaceniu błonnikowym preparatem ze skrobi ziemniaczanej. Materiał badawczy stanowiły 3 smaki musów: jabłko-brzoskwinia-pasternak, jabłko-wiśnia-marchew i jabłko-marchew-pigwowiec. Badania obejmowały pomiar pH, analizę parametrów barwy CIE $L^*a^*b^*$ oraz charakterystykę kleikowania musów warzywno-owocowych. Oznaczono także zawartości całkowitego błonnika pokarmowego (TDF) w musach warzywno-owocowych przy użyciu metody enzymatyczno-grawimetrycznej AOAC 991.43.

Wyniki i wnioski: Dodatek preparatu błonnikowego ze skrobi ziemniaczanej spowodował nieznaczne obniżenie pH musu jabłko-wiśnia-marchew. Dla każdego smaku zaobserwowano zmianę barwy na ciemniejszą, przy czym największą różnicą parametrów barwy (ΔE) wykazywał się mus o smaku jabłko-marchew-pigwowiec. Musy warzywno-owocowe wzbogacone preparatem błonnikowym ze skrobi ziemniaczanej charakteryzowały się wyższą całkowitą zawartością błonnika w porównaniu z musami niewzbo-

gacany. Przetwory z dodatkiem błonnikowego preparatu odznaczały się niższymi parametrami kleikowania w porównaniu do musów kontrolnych. Na podstawie przeprowadzonych badań funkcjonalnych nie zaobserwowano, aby wzbogacanie musów warzywno-owocowych preparatem błonnikowym ze skrobi ziemniaczanej miało negatywny wpływ na produkt końcowy. Można zatem wnioskować, że zastosowanie błonnikowego preparatu ze skrobi ziemniaczanej wpływa na cechy funkcjonalne musów warzywno-owocowych, podnosząc ich wartość żywieniową oraz zdrowotną.

Słowa kluczowe: musy warzywno-owocowe, błonnik pokarmowy, wzbogacanie żywności, skrobia ziemniaczana ✕

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 30 września 2023 r.

Polskie akty prawne

1. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 7 lipca 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. 1773).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 17 listopada 2021 r. o przeciwdziałaniu nieuczciwemu wykorzystywaniu przewagi kontraktowej w obrocie produktami rolnymi i spożywczymi.
Ustawa określa zasady i tryb przeciwdziałania, w celu ochrony interesu publicznego, praktykom nieuczciwie wykorzystującym przewagę kontraktową produktów rolnych lub spożywczych lub dostawców tych produktów. Powyższa ustawa określa także właściwość organu w przedmiotowych sprawach oraz współpracy z Komisją Europejską.
2. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 24 sierpnia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o ochronie konkurencji i konsumentów. (Dz. U. 2023 r., poz. 1689).
Obwieszczenie zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 24 sierpnia 2021 r. o ochronie konkurencji i konsumentów.
Ustawa:

- określa warunki rozwoju i ochrony konkurencji oraz zasad podejmowanej w interesie publicznym ochrony interesów przedsiębiorców i konsumentów;
 - reguluje zasady i tryb przeciwdziałania praktykom ograniczającym konkurencję, praktykom naruszającym zbiorowe interesy konsumentów oraz stosowaniu niedozwolonych postanowień wzorów umów, a także przeciwdziałania anty-konkurencyjnym koncentracjom przedsiębiorców i ich związków;
 - określa organy właściwe w sprawie ochrony konkurencji i konsumentów.
3. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 28 lipca 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia. (Dz. U. 2023 r., poz. 1448).

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

Ustawa określa:

- wymagania zdrowotne żywności;
- wymagania dotyczące przestrzegania zasad higieny: żywności, materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością;
- właściwości organów w zakresie przeprowadzania urzędowych kontroli żywności;
- wymagania dotyczące przeprowadzania urzędowych kontroli żywności.

Ustawa reguluje również:

- zasady sprzedaży, reklamy i promocji środków spożywczych;
 - wymagania w zakresie żywienia dzieci i młodzieży w ramach żywienia zbiorowego.
4. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dn. 25 maja 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o organizacji rynków owoców i warzyw oraz rynku chmielu. (Dz. U. 2023 r., poz. 1318).

Obwieszczenie zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 19 grudnia 2003 r. o organizacji rynków owoców i warzyw oraz rynku chmielu.

Ustawa określa zadania i właściwości jednostek organizacyjnych i organów organizacji w zakresie określonych przepisami Unii Europejskiej organizacji rynków: owoców i warzyw oraz chmielu.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/1414 z dn. 29 czerwca 2023 r. rejestrujące w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń geograficznych nazwę „Powidła śliwkowe z Doliny Dolnej Wisły” (ChOG)]. (DZ.U. UE L 2023 r., 171, s. 5). ☒

XV KONFERENCJA NAUKOWA Z CYKLU „ŻYWNOŚĆ XXI WIEKU”

Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu

Kraków, 21-22 września 2023 r.

W dniach 21-22 września 2023 r. w Krakowie odbyła się XV Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku”, zorganizowana przez Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Oddział Małopolski oraz Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Patronat nad nią objął Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu Polskiej Akademii Nauk. Konferencja została dofinansowana ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki w ramach programu „Dokonała nauka” – moduł: „Wsparcie konferencji naukowych na lata 2022-2023”. Konferencje z cyklu „Żywność XXI wieku” realizowane są z reguły w cyklu dwuletnim, już od 30 lat, bowiem od 1993 r., kiedy to zorganizowano pierwszą konferencję pn. „Żywność wygodna” pod przewodnictwem ówczesnego prezesa OM PTTŻ – prof. dr. hab. inż. Mieczysława Pałasińskiego. Konferencje te kierowane są do szerokiego grona pracowników jednostek naukowych, doktorantów, studentów oraz praktyków zajmujących się zagadnieniami z zakresu technologii żywności i żywienia człowieka. Tradycją jest, iż obrady odbywają się zawsze w Krakowie. Tegoroczna konferencja była jubileuszową.

Zmieniające się współcześnie uwarunkowania ogólnogospodarcze w sektorze żywności oraz rosnąca świadomość konsumentka stawiają nowe wyzwania przed producentami żywności. Oczekiwania konsumentów dotyczące przejrzystości i bardziej innowacyjnych produktów czy też wciąż ewoluujące wymagania w zakresie jakości i zgodności z przepisami prawa żywnościowego wymuszają zmiany w obszarze przetwórstwa żywności. Wdrażanie nowoczesnych rozwiązań technologicznych oraz modyfikacje istniejących stają się niezbędne w obliczu coraz wyraźniejszego trendu poszukiwania bardziej ekologicznych źródeł żywności oraz minimalizacji wpływu przetwórstwa spożywczego na środowisko. W świetle powyższych zagadnień tematem przewodnim organizowanej konferencji była „Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu”.

Za przygotowanie konferencji i zarządzanie nią odpowiadał Komitet Organizacyjny, w którego skład wchodził pracownicy WTŻ URK: dr hab. inż. Emilia Bernaś, prof. URK – przewodnicząca, dr hab. inż. Dorota Gałkowska, prof. URK – sekretarz, dr hab. Gohar Khachatryan, prof. URK – zastępca sekretarza, dr Marta Liszka-Skoczylas – skarbnik oraz członkowie: dr hab. inż. Marek Sady, prof. URK; dr hab. Kinga Topolska, prof. URK; dr hab. inż. Teresa Witczak, prof. URK; dr Łukasz Skoczylas, prof. URK; dr inż. Grzegorz Fiutak; dr Gabriela Zięć; dr inż. Michał Pancerz.

Poczet Komitetu Naukowego stanowili pracownicy WTŻ URK: prof. dr hab. Aleksandra Duda (przewodnicząca); prof. dr hab. inż. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz; prof. dr hab. inż. Lesław Juszczak; prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska; prof. dr hab. inż. Władysław Migdał; prof. dr hab. inż. Krzysztof Surówka; prof. dr hab. inż. Mariusz Witczak; dr hab. inż. Dorota Gumul, prof. URK; dr hab. Karen Khachatryan, prof. URK; dr hab. inż. Marcin Łukasiewicz, prof. URK; dr hab. inż. Dorota Najgebauer-Lejko, prof. URK; dr hab. inż. Anna Ptaszek, prof. URK; dr hab. inż. Jacek Słupski, prof. URK; dr hab. inż. Bożena Stodolak, prof. URK.

Do grona Komitetu Honorowego należeli: prof. dr hab. inż. Grażyna Jaworska (Uniwersytet Rzeszowski), prof. dr hab. Tadeusz Sikora (Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie), prof. dr hab. Joanna Stadnik (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) oraz prof. Ing. Jozef Golian, PhD (Słowacki Uniwersytet Rolniczy w Nitrze).

Uczestnikami konferencji byli pracownicy szesnastu krajowych uczelni wyższych, jednej uczelni zagranicznej – Słowackiego Uniwersytetu Rolniczego w Nitrze, czterech instytutów naukowo-badawczych, jednej instytucji administracji państwowej oraz sześciu podmiotów gospodarczych. Najliczniej reprezentowane były Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie oraz Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Łącznie w konferencji wzięli udział 123 osoby.

Konferencję uroczystie otwarła Pani Dziekan Wydziału Technologii Żywności URK i zarazem przewodnicząca Komitetu Naukowego – prof. dr hab. Aleksandra Duda, życząc uczestnikom owocnego poszerzania wiedzy, wymiany doświadczeń naukowych oraz nawiązywania współpracy. Następnie głos zabrała przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego – dr hab. inż. Emilia Bernaś, która skierowała do gości słowa przywitania i zaprosiła do przewodniczenia sesji plenarnej Panią prof. dr hab. Joannę Stadnik z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz Pana prof. dr hab. inż. Jacka Domagałę z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Obecność licznie zgromadzonych gości z wielu ośrodków naukowych stała się okazją do wręczenia przez Panią prof. dr hab. Joannę Stadnik – Prezes Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności – Złotej Odznaki PTTŻ Pani prof. dr hab. Grażynie Jaworskiej z Uniwersytetu Rzeszowskiego oraz Pani prof. dr hab. Danucie Kołożyn-Krajewskiej z SGGW w Warszawie. Odznaka

ta jest przyznawana przez Zarząd Główny PTTŻ wieloletnim członkom Towarzystwa za wybitny wkład w jego działalność i rozwój. Po tej uroczystej części, pierwszy wykład plenarny *Wyzwania dla produkcji żywności XXI wieku* wygłosiła dr hab. inż. Małgorzata Gumienna, prof. uczelni z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Treść niniejszego referatu doskonale wpisała się w tematykę rozpoczętej konferencji. Trendy w zakresie nowej żywności, ze szczególnym uwzględnieniem owadów jadalnych oraz produktów ubocznych przetwórstwa roślinnego przedstawiła słuchaczom doc. Ing. Martina Fikselová, PhD, ze Słowackiego Uniwersytetu Rolniczego w Nitrze w prezentacji *Novel foods in current approach – trends, benefits and risks*. Kolejnym prelegentem był prof. dr hab. Tadeusz Sikora z Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, który w sposób syntetyczny przedstawił zagadnienia prawa żywnościowego w prezentacji zatytułowanej *Systemowe zapewnianie bezpieczeństwa żywności – 30 lat doświadczeń*. Sesja plenarna zakończyła się interesującym wystąpieniem dr hab. inż. Gohar Khachatryan, prof. URK, która w referacie *Nano-/mikrokapsułki zawierające składniki bioaktywne w technologii żywności* przybliżyła uczestnikom konferencji zagadnienia nanotechnologii w kontekście współczesnej nauki i przemysłu spożywczego.

Po sesji plenarnej odbyły się dwie równoległe sesje panelowe, których tematami przewodnimi były *Żywnie człowieka oraz jakość i bezpieczeństwo żywności* oraz *Współczesne trendy w tworzeniu żywności prozdrowotnej*. W ramach tych sesji wygłoszono łącznie 16 referatów, w których przedstawiono wyniki najnowszych badań naukowych i poruszono wiele zajmujących zagadnień. Dalszą część konferencji stanowiły dwie prowadzone równoległe sesje e-posterowe, w następujących obszarach tematycznych: *Postawy konsumentów i nowe trendy żywieniowe* oraz *Innowacje produktowe a jakość zdrowotna żywności*. Zaprezentowanych zostało łącznie 21 komunikatów naukowych. Poszczególne sesje wieńczyła otwarta dyskusja nad poruszonymi tematami.

Na nieformalną część pierwszego dnia konferencji złożyły się popołudniowe zwiedzanie Muzeum Farmacji w Krakowie oraz uroczysta kolacja odbywająca się w Premier Kraków Hotel.

W drugim dniu konferencji, 22 września 2023 r., sesji plenarnej przewodniczyli Pani prof. dr hab. inż. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie oraz Pan prof. Ing. Jozef Golian, PhD, ze Słowackiego Uniwersytetu Rolniczego w Nitrze. Sesja rozpoczęła się wystąpieniem prof. dr hab. Joanny Stadnik (UP w Lublinie). Przedstawiła ona przygotowany na wysokim poziomie referat *Współczesne wyzwania dla nauki i technologii mięsa*, w którym przybliżyła uczestnikom konferencji m.in. główne kierunki rozwoju technologii produktów mięsnych. Następnym wykładem plenarnym zatytułowany *Rola dźwięku w ocenie jakości żywności* wygłosiła dr hab. inż. Agata Marzec, prof. uczelni ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Z kolei dr inż. Piotr Pokrzywa – pracownik Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Krakowie – w referacie *Nadzór nad bezpieczeństwem żywności*

zaprezentował dane dotyczące działań podjętych przez WSSE w Krakowie w zakresie bezpieczeństwa żywności na terenie województwa małopolskiego. Na zakończenie sesji plenarnej miały miejsce dwa wydarzenia towarzyszące. Pierwszym z nich było wystąpienie dr inż. Marii Walczyckiej z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie z prezentacją na temat międzynarodowego projektu FOODINOVO, w którym partnerami są Uniwersytet Rolniczy w Krakowie i ośrodki zagraniczne: Słowacki Uniwersytet Rolniczy w Nitrze, Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Farmacji w Koszycach oraz Uniwersytet Weterynaryjny i Farmaceutyczny w Brnie. Drugim wydarzeniem było ogłoszenie przez prof. dr hab. inż. Agnieszkę Kitę z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wyników konkursu organizowanego przez PTTŻ na najlepszą pracę doktorską z zakresu nauk o żywności w 2022 r. oraz wręczenie statuetki. Laureatem konkursu został dr inż. Igor Turkiewicz – pracownik Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

W kolejnej części konferencji odbyły się dwie, prowadzone równolegle, sesje referatowe. W ramach pierwszej z nich, na temat *Współczesnych trendów w kształtowaniu jakości surowców i produktów spożywczych*, wygłoszonych zostało 9 referatów, natomiast w drugiej sesji o tytule *Właściwości funkcjonalne i prozdrowotne żywności* wystąpiło dziesięciu prelegentów. Ostatnią część konferencji stanowiły dwie odbywające się równolegle sesje e-posterowe. Treści prezentacji przedstawianych podczas jednego panelu koncentrowały się na *Innowacjach surowcowych i technologicznych w produkcji żywności i opakowań*, natomiast tematem przewodnim drugiego panelu była *Analiza i ocena jakości żywności*. Razem w tych dwóch sesjach udział wzięło 27 prelegentów. Krótkie dyskusje podsumowujące poszczególne sesje umożliwiły uczestnikom wymianę spostrzeżeń dotyczących prezentowanych wyników badań naukowych.

Spośród wygłoszonych komunikatów ustnych i zaprezentowanych e-posterów w obrębie poszczególnych sesji panelowych, powołane przez Komitet Organizacyjny Komisje wyłoniły po jednym najlepszym wystąpieniu. Wyróżnieni autorzy zostali uhonorowani okolicznościowymi dyplomami oraz upominkami.

Za prezentację referatu ustnego wyróżnienia otrzymali:

- dr hab. inż. Dorota Najgebauer-Lejko, prof. URK (Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie): *Roślinne zamienniki jogurtów*;
- dr hab. inż. Łukasz Łopusiewicz (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie): *Procesy biotransformacji jako droga do przekształcenia makuchoń w kierunku żywności funkcjonalnej*;
- dr inż. Agnieszka Palka (Uniwersytet Morski w Gdyni): *Perspektywy rozwoju rynku lodów rzemieślniczych jako żywności funkcjonalnej*;
- dr Magdalena Krekora (Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk w Lublinie): *Wpływ wybranych flawonoidów i ich glikozydów na*

drugo- i trzeciorzędową strukturę białek glutenowych w modelowym cieście pszennym.

Za prezentację e-posterową wyróżnienia otrzymali:

- dr hab. inż. Andrzej Baryga, prof. uczelni (Politechnika Łódzka): *Własności żywieniowe sałaty odmiany Lento w warunkach uprawy z wykorzystaniem popiołu ze spalania biomasy do nawożenia;*
- dr hab. inż. Joanna Klepacka, prof. UWM (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie): *Ocena możliwości dodawania łuski gryczanej do wybranych produktów spożywczych;*
- dr hab. inż. Elżbieta Radziejewska-Kubzdela (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): *Ocena wpływu ultradźwięków na zwiększenie efektywności procesu nasączenia próżniowego plastrów marchwi i kostki jabłkowej;*
- dr hab. Katarzyna Waszkowiak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): *Preparaty białek nasion lnu jako funkcjonalne składniki żywności: wpływ metody ekstrakcji na właściwości przeciwtleniające.*

Podsumowania i oficjalnego zakończenia konferencji dokonała Przewodnicząca Oddziału Małopolskiego PTTŻ, a zarazem przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego – dr hab. inż. Emilia Bernaś, prof. URK. Skierowała ona słowa podziękowania do wszystkich uczestników, dodając, iż wystąpienia prelegentów wpisały się w nakreślony cel konferencji, a spotkanie z pewnością stanowiło dla uczestników ważne forum wymiany poglądów i nawiązywania współpracy naukowej. W dalszej części wystąpienia, prof. Emilia Bernaś podziękowała podmiotom gospodarczym, które sponsorowały konferencję. Były nimi: BIOING sp. z o.o. (Rybnik), Scandia Cosmetics SA (Niepolomice) oraz SHIM-POL A.M. Borzymowski (Warszawa). Na koniec, prof. Emilia Bernaś zaprosiła wszystkich zgromadzonych do uczestnictwa w kolejnej edycji konferencji naukowej z cyklu „Żywność XXI wieku”, planowanej na 2026 r.

Warto dodać, iż w ramach XV Konferencji Naukowej z cyklu „Żywność XXI wieku” pod koniec 2023 r. została wydana w wersji elektronicznej monografia pt. „Żywność jako wyzwanie dla współczesnej nauki i przemysłu”, zawierająca artykuły naukowe uczestników konferencji. Publikacja ta jest dostępna na stronie internetowej Wydawcy – Wydawnictwa Naukowego PTTŻ.

Opracowanie: Dorota Gałkowska
Sekretarz Komitetu Organizacyjnego

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 33 Nr 3

wrzesień 2023

ZEBRANIE ZARZĄDU GŁÓWNEGO PTTŻ XII KADENCJI

Dnia 21 września 2023 r. odbyło się zebranie Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności XII kadencji w siedzibie Wydziału Technologii Żywności UR w Krakowie. Spotkanie otworzyła Prezes Zarządu Głównego prof. Joanna Stadnik i przedstawiła sprawozdanie z działalności Prezydium ZG PTTŻ w okresie lipiec - wrzesień 2023 r. Następnie ogłoszono wyniki konkursu na najlepszą publikację w czasopiśmie ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość w roku 2022. W dalszej kolejności omówiono sprawy organizacyjne Towarzystwa i zatwierdzono terminarz Sesji Naukowych SMKN PTTŻ na lata 2024-2034. Na koniec Pani Prezes podsumowała spotkanie i podziękowała członkom Zarząd za uczestnictwo.

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE W ROKU 2023

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>

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE W ROKU 2024

Marzec

- 20 – 22 Piszczany, Słowacja - XXI. Vedecká Konferencia s Medzinárodnou Účasťou - **Bezpečnosť a Kontrola Potravín**
Informacje: www.potravinarstvo.sk
Kontakt: e-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Kwiecień

- 9 -11 Porto, Portugalia – **8th International Conference on Food Digestion**
Organizator: INFOGEST: An International Network of Excellence on the Fate of Food in the Gastrointestinal Tract
Informacje: <https://www.icfd2024.com/>
- 14-18 Thessaloniki, Grecja – **19th Food Colloids Conference: “Using colloid science to find new sustainable solutions in food”**
Organizator: International Hellenic University- Dept. of Food Science and Technology,
Informacje: <https://foodcolloids2024.org/>
- 15 – 17 Kiry k. Zakopanego, Ośrodek SGGW „Marymont“ = **VIII 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: sympozjum_bezpieczenstwo@sggw.edu.pl
- 17 – 19 Kiry k. Zakopanego, Ośrodek SGGW „Marymont“ = **Krokusowe XIV 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/aKafAn0yB0>
Kontakt: sympozjum_probiotyki@sggw.edu.pl
- 22 – 25 Nantes, Francja – **International Cereal and Bread Congress (ICBC)**,
Organizator: International Association for Cereal Science and Technology
Informacje: <https://icc-icbc.com/en/>

Maj

- 16 – 17 Gdańsk – **XXVIII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt. “Żywności wobec wyzwań współczesnego świata”** oraz XIth International Session of Young Scientific Staff „**Food in the face of the challenges of the modern world**”
Organizatorzy: Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny Politechnika Gdańska, Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ ; Patronat: Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN
Informacje: www.chem.pg.edu.pl/smkn2024
Kontakt: smkn2024@pg.edu.pl; tel. 58 347 16 98, 58 347 26 56

Czerwiec

- 5 – 7 Ohrid, Macedonia – **The NUTRICON 2024 Congress**, dedicated to *Food Quality and Safety, Health and Nutrition*
Informacje: <https://keyevent.org/>
Kontakt: info@key.com.mk
- 26 – 28 Praga, Republika Czeska – “**9th Edition of innovations in Food Science and Human Nutrition (IFHN-2024)**”
Informacje: <https://foodscience-nutrition.org/>

Lipiec

- 8 – 11 Burgos, Hiszpania – **28th International ICFMH Conference Food**
Organizator: International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH)
Informacje: <https://foodmicro2024.com/home.php>

Wrzesień

- 8 – 12 Rimini, Włochy – **World Congress of Food Science and Technology** “*The future of food is now: Development, Functionality & Sustainability.*”
Informacje: <https://iufost2024-italy.com/>
- 16 – 18 Rzym, Włochy – **6th Edition of Euro-Global Conference on Food Science and Technology FAT 2024.** “*FOOD: Focusing On Outstanding Discoveries in Food Science and Technology.*”
Informacje: <https://food-chemistry-technology-conferences.magnusgroup.org/>

Październik

- 6 – 9 Brugia, Belgia – **6th Food Structure and Functionality Symposium: Meeting the sustainability challenge**
Organizator: Elsevier
Informacje: <https://www.elsevier.com/events/conferences/all/food-structure-and-functionality-forum-symposium>

Listopad

- 12 – 14 Brugia, Belgia - **38th EFFoST International Conference 2024 Future Food Systems:** „*Innovation through Progress at Scientific Interfaces*”
Informacje: <https://effostconference.com/>
- 14 – 15 Warszawa, – **X Jubileuszowa Konferencja Naukowa:** „*Fizjologiczne uwarunkowania postępowania dietetycznego*”

Organizator: Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Katedra Dietetyki SGGW
Warszawa

Informacje: <http://www.zywienieifizjologia.sggw.pl> do

Kontakt: fizj_diet@sggw.edu.pl

- 21 – 22 Częstochowa – **X Ogólnopolska Konferencja Naukowa z cyklu: Żywność - Żywnienie – Dietetyka** „*Żywność funkcjonalna a diety niekonwencjonalne*”
Organizatorzy: Katedra Dietetyki i Badań Żywności, Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności,
Komitet Nauk o Żywności i Żywieniu PAN

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

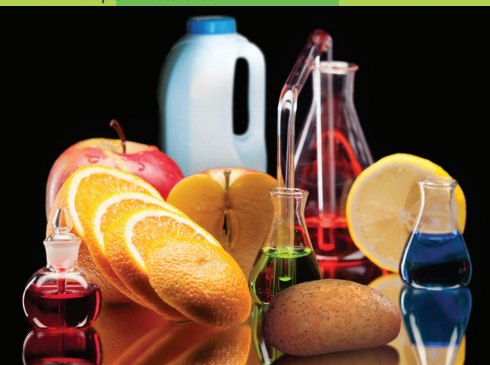
CONTENTS

From the Editor	3
IZABELA PODGÓRSKA-KRYSZCZUK, MONIKA KORDOWSKA-WIATER, EWA SOLARSKA, URSZULA PANKIEWICZ: Yeast as an alternative method for fungal control in food industries	5
ROBERT GAJDA, MAŁGORZATA SOBIESZCZAŃSKA, ŁUKASZ NOCULAK, MAŁGORZATA SZYMALA-PĘDZIK, MONIKA MAČKÓW, BEATA KACZMAREK-WDOWIAK: The relationship between nutritional risk factors, demographic characteristics and a socio-economic status in a study group of community-dwelling older adults in Poland.....	22
MONIKA MAJOCH, JUDYTA HOMONCIK, ANNA MIKULEC, IZABELLA WĘGRZYN: The prevalence and selected risk factors of <i>Orthorexia Nervosa</i> disorder using the ORTO-15 test	47
ANNA GAŚSIOR, MILENA GIEMZA, WERONIKA PONIKIEWSKA, AGNIESZKA MACHUL-ŻWIRBLA, JANUSZ MAGIERA, JACEK BUŁKA, KRYSZYNA SKWARCZYŃSKA-MAJ, ELŻBIETA POMIETŁO: The application of the probiotic strain <i>Lactiplantibacillus Plantarum</i> PL8 in the production of chocolate products with a porous core	68
AGATA ZNAMIROWSKA-PIOTROWSKA, OKSANA PETRUSHA, MAŁGORZATA PAWŁOS, MAGDALENA KOWALCZYK, MAGDALENA BUNIEWSKA-OLEJNIK, KATARZYNA SZAJNAR: The effect of psyllium fiber and chokeberry fibre addition on the quality of probiotic fermented milk	101
KAMILA POKORSKA-NIEWIADA, MILENA SADOWSKA, AGATA WITCZAK, MAŁGORZATA SZCZUKO: Trace elements in breakfast flakes - benefits and risks associated with their consumption	121
DOROTA JAKKIELSKA, RAFAŁ WAWRZYŃIAK, MARCIN FRANKOWSKI, ANETTA ZIOŁA-FRANKOWSKA: characteristic of volatile components profile in polish wines by GC-MS	139
IRENEUSZ OCHMIAN, FRYDERYK SIKORA, MAŁGORZATA GAŁCZYŃSKA, SABINA LACHOWICZ-WIŚNIEWSKA: Eight old cultivars of apple trees – an evaluation of their potential for use by the processing industry	160
AGNIESZKA STAREK-WÓJCICKA, ELŻBIETA GRZĄDKA, AGNIESZKA SAGAN, PIOTR TEREKUN, MICHAŁ KWIATKOWSKI, DAWID ZARZECZNY, ZBIGNIEW KOBUS, BARBARA CHUDZIK, DARIUSZ ANDREJKO, JOANNA PAWŁAT: The effect of cold atmospheric plasma treatment on the quality of fresh pressed carrot juice.....	178
AGATA JABŁOŃSKA, MARCIN KRUK, SZYMON POCHYLSKI, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA: The usefulness of fermented kombucha tea for the production of low-alcoholic drinks	195
MACIEJ JARZĘBSKI, SHALOME NIYOBUHUNGIRO, WOJCIECH SMULEK, GRZEGORZ FIUTAK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK, MAREK SADY: Analysis of emulsion systems with hemp oil as vitamin K supplements.....	209
MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA, DANUTA KOŁOŻYŃSKA-KRAJEWSKA: Household size and day of the week and the level of wasted food	224
GRAŻYNA BORTNOWSKA: Effects of composition of gluten-free binary gels on the retention and release of aroma compounds.....	244
DOROTA GAŁKOWSKA, MONIKA POŁUDNIAK, LESŁAW JUSZCZAK: The effect of polydextrose on rheological characteristics and sensory properties of reduced sucrose starch-milk desserts	265
DOMINIKA KACZMAREK, MALWINA WÓJCIK, KAMILA KAPUŚNIAK, JANUSZ KAPUŚNIAK: Assessment of functional properties of vegetable and fruit mousses enriched with a fiber preparation from potato starch	284
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	300
15th Scientific Conference from the series "FOOD OF THE 21st CENTURY"	302
The Food Technologist.....	307

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