

ŻYWNOŚĆ

Nauka
Technologia
Jakość

FOOD

Science
Technology
Quality



Kwartalnik
Nr 3
Kraków 2024

Nr 3 (140); Rok 31
ISSN 2451-0769
e-ISSN 2451-0777



ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 3 (140)

Kraków 2024

Rok 31

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
GABRIELA SOKOŁOWSKA, AGATA JABŁOŃSKA-TRYPUĆ, MONIKA NAUMOWICZ: Berberylna – związek bioaktywny pozyskiwany z roślin leczniczych	5
ANNA PILISZEK, ADRIANNA SZPRYNCA, EMILIA BAGNICKA: Rozwój badań w dziedzinie bioinżynierii i biotechnologii.....	16
MAGDALENA KARWACKA, AGNIESZKA CIURZYŃSKA, MONIKA JANOWICZ, SABINA GALUS: Algi morskie – niekonwencjonalny składnik żywności	38
NATALIA POLAK, STANISŁAW KALISZ, BARTOSZ KRUSZEWSKI: Przepływowa pasteryzacja mikrofalowa produktów owocowych i warzywnych	55
PIOTR ŁALOWSKI, MARCIN KRUK, MUHAMMAD SALMAN, MONIKA TRZĄSKOWSKA: Właściwości prebiotyczne młóta browarnianego – przegląd literatury	69
PIOTR JANISZEWSKI, DARIUSZ LISIAK, KAROL BORZUTA, EUGENIA GRZEŚKOWIAK, TOMASZ SCHWARZ, KRZYSZTOF POWAŁOWSKI, BEATA LISIAK, URSZULA SIEKIERKO, ŁUKASZ SAMARDAKIEWICZ: Wpływ zastosowania dodatku pszenżyta w żywieniu tuczników na cechy fizykochemiczne oraz profil kwasów tłuszczowych mięsa.....	82
AGNIESZKA JANKOWSKA, KATARZYNA KIEŁCZEWSKA, MARIA WACHOWSKA, DAMIAN MARCINIAK: Określanie pochodzenia wina na podstawie wybranych parametrów jakościowych	94
ANITA KUKUŁOWICZ, ANNA ZBAWICKA: Bezpieczna soja: starcie mikrobiologiczne między tofu ekologicznym a konwencjonalnym.....	106
MARTA POPIELARCZYK, MARTA CZARNOWSKA-KUJAWSKA, BEATA PASZCZYK, MAŁGORZATA STAROWICZ: Właściwości chemiczne, przeciwutleniające i sensoryczne napoju sojowego typu kombucha.....	115
ANNA PLATTA, ANNA MIKULEC, MONIKA RADZYMIŃSKA, GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI: Owady jadalne jako potencjalny produkt służący osiągnięciu bezpieczeństwa żywnościowego. Część 1	129
ANNA MIKULEC, ANNA PLATTA, MONIKA RADZYMIŃSKA, GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI: Owady jadalne jako potencjalny produkt służący osiągnięciu bezpieczeństwa żywnościowego. Część 2	149
JAN PIECKO, MONIKA MIESZCZAKOWSKA-FRĄC, JUSTYNA SZWEJA-GRZYBOWSKA, KAROLINA CELEJEWSKA: Wpływ rodzaju homogenizacji na właściwości reologiczne i zawartość związków bioaktywnych w mętym soku z truskawek.....	171
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	186
Nowe książki	188
Technolog Żywności	195

Zamieszczone artykuły są recenzowane

Czasopismo jest referowane przez: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef, EBSCO, Electronic Journal Library, JournoScope, ResearchGate



ŻYWNOSĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (140)

Kraków 2024

Rok 31

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@ptt.org

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

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

Redaktor statystyczny: prof. dr hab. Mariusz Witczak

Stali współpracownicy: dr Grażyna Morkis (Kraków)

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2024*
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(140) 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, nowych książkach 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 2024 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”.

UNIwersytet JANA DŁUGOSZA W CZĘSTOCHOWIE
POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI
KOMITET NAUK O ŻYWNOSCI I ŻYWIENIU PAN
ZAPRASZAJĄ NA

X OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJĘ NAUKOWĄ

CZĘSTOCHOWA | 21-22 XI
2024

ŻYWNOSĆ FUNKCJONALNA A DIETY NIEKONWENCJONALNE



MIEJSCE

 Al. Armii Krajowej 13/15,
42-200 Częstochowa

ZGŁOSZENIA DO 30 IX 2024

 dietkonf@ujd.edu.pl

GABRIELA SOKOŁOWSKA, AGATA JABŁOŃSKA-TRYPUĆ,
MONIKA NAUMOWICZ

BERBERYNA – ZWIĄZEK BIOAKTYWNY POZYSKIWANY Z ROŚLIN LECZNICZYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Berberyna jest metabolitem roślinnym należącym do grupy alkaloidów izochinolinowych o silnej aktywności biologicznej i farmakologicznej. Szeroko obecna jest w roślinach leczniczych, zwłaszcza z rodzaju *Berberis*. Obecnie berberyna cieszy się dużym zainteresowaniem ze względu na działanie przeciwnowotworowe wynikające z inhibicji/stymulacji wielu szlaków biochemicznych.

Wyniki i wnioski. Badania wykazały, że berberyna ma również działanie przeciwcukrzycowe, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe. Jest to naturalny lek do zastosowań klinicznych w różnych chorobach i stanach patologicznych, takich jak miażdżyca, rak, choroba Alzheimera, cukrzyca, PCOS, infekcje bakteryjne i wirusowe itp. Dlatego też rosnąca liczba prac na temat berberyny wymaga podsumowania wiedzy i trendów badawczych. Wiele prac koncentruje się na nowych strategiach terapeutycznych opartych na nowych formułach lub poszukiwaniu nowych aktywnych pochodnych. Aktywność berberyny jest bardzo ważna w odniesieniu do uwrażliwiania i wspomagania terapii przeciwnowotworowej w połączeniu z dobrze znanymi, ale w niektórych przypadkach nieskutecznymi terapeutykami. W obecnych czasach obserwuje się ciągle wzrost liczby naturalnych produktów pochodnych i zainteresowanie nimi, dlatego berberyna może być potencjalnym źródłem przyszłych odkryć i rozwoju leków. Wciąż jednak potrzebne są dalsze badania. Obecnie związek ten jest oceniany w wielu ważnych badaniach klinicznych i jest jedną z najbardziej obiecujących i intensywnie badanych substancji naturalnych. Głównym celem niniejszego przeglądu jest podsumowanie wiedzy dotyczącej berberyny – mało znanego składnika roślin, ale o szerokim zakresie właściwości farmakologicznych. W niniejszej pracy omówiona została berberyna z uwagi na jej występowanie, tradycyjne wykorzystanie, właściwości farmakologiczne i antyoksydacyjne.

Słowa kluczowe: berberyna, bioaktywność, alkaloid

Wprowadzenie

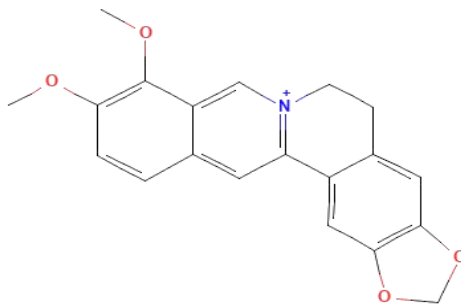
Rośliny wytwarzają wiele różnych produktów metabolizmu – wtórnych metabolitów – takich jak alkaloidy, terpenoidy i polifenole [25]. Alkaloidy o silnej aktywności

Mgr inż. G. Sokołowska ORCID: 0009-0007-6263-8893; dr hab. A. Jabłońska-Trypuć ORCID: 0000-0002-7711-3017, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok; dr hab. M. Naumowicz 0000-0001-5229-1805, Wydział Chemii, Uniwersytet w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok.

Kontakt: email: gabriela.sokolowska@sd.pb.edu.pl

biologicznej od wieków były stosowane w medycynie tradycyjnej jako ekstrakty roślinne. Obecnie, dzięki nowym metodom badawczym, aktywne związki w ekstraktach mogą być identyfikowane i projektowane do nowych zastosowań. Jednym z nich jest berberyna, która obecnie cieszy się dużym zainteresowaniem ze względu na niezwykle obiecującą aktywność biologiczną i farmakologiczną [21].

Berberyna jest zaliczana do alkaloidów protoberberynowych (lub tetrahydroprotoberberyn), które składają się z tetracyklicznego szkieletu pierścieniowego opartego na układzie dibenzo[a.g]chinolizydyny, jak pokazano na ryc. 1. Mają podstawowy szkielet benzyloizochinoliny pochodzący z utleniania fenolu i sprzęgania z grupą N-metylową izochinoliny, tworząc „mostek berberynowy”. Pod względem chemicznym definiuje się ją jako 5,6-dihydro-9,10-dimetoksy-benzo[g]-1,3-benzodiokso[5,6- α]chinolizynę [25].



Ryc. 1. Chemiczna struktura berberyny [PubChem]

Fig. 1. Chemical structure of berberine [PubChem]

Berberyna jest organicznym związkiem chemicznym należącym do grupy alkaloidów benzyloizochinolinowych, występującym w wielu roślinach leczniczych, które są szeroko stosowane w tradycyjnej medycynie chińskiej od setek lat [5, 20]. Rośliny lecznicze, takie jak kłącze *Coptidis* i berberysu, są głównymi naturalnymi źródłami berberyny. Rośliny te występują w Ameryce Północnej Południowej, Europie, Afryce i Azji, i od dawna są stosowane i cenione przez wiele cywilizacji za ich właściwości lecznicze. Berberyna występuje głównie w korzeniach, korze i łodygach, ale również w kwiatach i gorzkich owocach tych roślin. Berberyna jest badana od ponad ośmiu dekad, a pierwszy przegląd na temat jej izolacji i właściwości chemicznych został opublikowany w 1926 roku [26]. Berberyna może być pozyskiwana zarówno na drodze ekstrakcji z naturalnych źródeł tego alkaloidu lub otrzymywana na drodze syntezy chemicznej. Do tej pory do ekstrakcji alkaloidów stosuje się różne techniki ekstrakcji, takie jak: ekstrakcja Soxhleta, ekstrakcja rozpuszczalnikiem na gorąco, ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym czy też ekstrakcja wspomaganą ultradźwiękami lub promieniowaniem mikrofalowym [20]. Oferowane na rynku suplementy berberyny to

przede wszystkim naturalne ekstrakty, w których stosując odpowiednie rozpuszczalniki, uzyskuje się berberynę w postaci soli [32]. Możliwe jest otrzymanie berberyny m.in. w postaci soli chlorkowych i siarczanowych. Obie formy berberyny wykazują taką samą aktywność, jeśli chodzi o właściwości głównej części cząsteczki, czyli berberyny, gdyż w organizmie po rozpuszczeniu cząsteczka – zarówno siarczan, jak i chlorowoderek berberyny – dysocjuje na dwie niezależne części: berberynę – główną część związku wykazująca aktywność oraz chlorek lub siarczan. Berberyna w czystej postaci ma niską biodostępność, natomiast sole (zwłaszcza siarczan berberyny) są rekomendowane jako łatwiej biodostępne. Pojawiają się również badania dotyczące zwiększania biodostępności berberyny poprzez np. wytwarzanie nowych pochodnych [8, 19]. Sól chlorkowa lub siarczanowa berberyny jest powszechnie stosowana do celów klinicznych [31]. Alkaloidy są zwykle zasadowe i bezbarwne, a berberyna to intensywnie żółty, bezwonny proszek o kwaśnym odczynie. Wyróżnia ją charakterystyczny alkaloidowy gorzki smak [20]. Jest bardzo słabo rozpuszczalna w wodzie, etanolu i metanolu, jednak jej sole są stosunkowo lepiej rozpuszczalne [13].

Naturalne źródła berberyny

Berberyna została wykryta, wyizolowana i oznaczona ilościowo z różnych rodzin i rodzajów roślin, w tym Annonaceae (Annickia, Coelocline, Rollinia i Xylopia), Berberidaceae (Berberis, Caulophyllum, Jeffersonia, Mahonia, Nandina i Sinopodophyllum), Menispermaceae (Tinospora), Papaveraceae (Argemone, Bocconia, Chelidonium, Corydalis, Eschscholzia, Glaucium, Hunnemannia, Macleaya, Papaver i Sanguinaria), Ranunculaceae (Coptis, Hydrastis i Xanthorhiza) oraz Rutaceae (Evodia, Phellodendron i Zanthoxylum). Rodzaj Berberis jest dobrze znany jako najbardziej rozpowszechnione naturalne źródło berberyny. Kora *B. vulgaris* zawiera ponad 8 % alkaloidów, w tym berberyna stanowi około 5 %. Berberyna jest również szeroko obecna w korze, liściach, gałązkach, kłęczach, korzeniach i łodygach kilku gatunków roślin leczniczych, w tym *Argemone mexicana* (argemon meksykański), *Berberis aristata* (berberys indyjski), *B. aquifolium* (mahonia pospolita), *B. heterophylla*, *B. beani*, *Coscium fenestratum*, *C. chinensis*, *C. japonica*, *C. rhizome*, *Hydratis canadensis* (gorzknik kanadyjski), *Phellodendron amurense* (korkowiec amurski), *P. chinense* (korkowiec chiński), *Tinospora cordifolia* (guduchi), *Xanthorhiza simplicissima* (żółcień amerykański) [20].

Badania wykazały, że kora i korzenie są bogatsze w berberynę w porównaniu z innymi częściami roślin [29]. W rodzinie *Papaveraceae*, *Chelidonium majus* (glistnik jaskółcze ziele) jest kolejnym ważnym ziołowym źródłem berberyny. *Coptidis rhizoma* i berberys, są natomiast naturalnymi źródłami o największej zawartości berberyny. Berberysy, takie jak *Berberis aristata*, *B. aquifolium*, *B. asiatica*, *B. croatica*, *B. thunbergii* i *B. vulgaris*, to krzewy uprawiane głównie w Azji i Europie, a ich kora, owoce,

liście i korzenie są często szeroko stosowane w medycynie ludowej. Dane literaturowe wskazują, że maksymalne stężenie berberyny zidentyfikowano w korzeniach ($1,6 \div 4,3$ %) i w większości gatunków *Berberis*. Rośliny, które rosną na niskich wysokościach, zawierają więcej berberyny w porównaniu z roślinami rosnącymi na wyższych wysokościach. Jednak nie można w pełni ustalić korelacji między zawartością berberyny w poszczególnych gatunkach a pora roku. Badania porównawcze dotyczące stężenia berberyny zawartej w różnych gatunkach tego samego rodzaju wykazały np. wyższą zawartość ogólną berberyny w *B. asiatica* (4,3 %) w porównaniu z *B. lycium* (4,0 %), i *B. aristata* (3,8 %). Badania wykazały wyższą zawartość berberyny w korzeniu *B. aristata* (2,8 %) w porównaniu z *B. asiatica* (2,4 %). Odnotowano sezonową zmienność stężenia berberyny, np. maksymalna wydajność berberyny dla *B. pseudumbellata* została uzyskana w letnich zbiorach i wynosiła 2,8 % w korzeniach i 1,8 % w korze łodygi, w przeciwieństwie do tej odnotowanej w korzeniach *B. aristata*, gdzie stężenie berberyny (1,9 %) jest wyższe dla zbiorów zimowych. Różnice te mogą być spowodowane wieloma czynnikami, wśród których wyróżniają się: (i) różnice wewnątrzgatunkowe, (ii) lokalizację i/lub (iii) zastosowane techniki analityczne. Jeśli chodzi o zawartość berberyny w owocach berberysu (*Berberis vulgaris* L.) literatura podaje, że wynosi ona 1,18 % (0,49 mg/ml) w ekstrakcie całkowitym [9, 13, 15, 20, 23, 29].

Owoce berberysu jako źródło berberyny w diecie

Owoce *Berberis vulgaris* L. (berberys zwyczajny) były wykorzystywane przez różne grupy etniczne jako żywność. Być może ze względu na ostry, gorzki smak berberyny tylko jagody tych roślin były spożywane jako produkty spożywcze. Owoce berberysu w postaci dżemów i innych przetworów, syropów i win były powszechnie spożywane w czasach średniowiecznych w Anglii i Europie Zachodniej. Berberys był i jest nadal popularnym towarem spożywczym na Bliskim Wschodzie i główną rośliną uprawną w południowym Iranie. W kuchni irańskiej i perskiej całe suszone jagody berberysu, tradycyjnie nazywane Zereshk, dodawane są do gulaszu i świątecznych potraw z ryżu. W Iranie przybliżona ilość suszonych jagód berberysu spożywanych tygodniowo waha się od 0,5 do 1 g. Berberys zwyczajny jest również konserwowany w postaci dżemów i galaretek, podczas gdy sok z berberysu jest spożywany ze względu na jego właściwości oczyszczające i obniżające ciśnienie krwi. Suszone owoce berberysu są również popularnym produktem spożywczym w Gruzji. W tym kraju owoce z *B. vulgaris*, lokalnie znane jako kotsakhuri, są dodawane do potraw mięsnych i używane jako przyprawa. Dzikie jagody *Berberis asiatica* pochodzące z Himalajów, są przetwarzane na różne produkty spożywcze, w tym dżemy oraz soki i stanowią sposób na poprawę lokalnej gospodarki. Jagody *Berberis boliviana* zostały ocenione jako naturalny dodatek barwiący do jogurtu [29].

Tradycyjne wykorzystanie roślin zawierających berberynę w leczeniu

W rodzinie *Berberidaceae* rodzaj *Berberis* obejmuje ok. 450 ÷ 500 gatunków, które stanowią główne naturalne źródło berberyny [29]. Te bogate w berberynę rośliny były stosowane od wieków w tradycyjnych lekach chińskich, ajurwedyjskich i rdzennych Amerykanów [20]. Rośliny z tego rodzaju są stosowane przeciwko stanom zapalnym, chorobom zakaźnym, cukrzycy, zaparciom i innym schorzeniom. Najstarsze dowody na stosowanie owoców berberysu (*Berberis vulgaris*) jako środka oczyszczającego krew zostały zapisane na glinianych tabliczkach w bibliotece asyryjskiego cesarza Asurbanipala w 650 r. p.n.e. W Azji szerokie zastosowanie łądygi, kory, korzeni roślin bogatych w berberynę, w szczególności gatunków *Berberis*, ma ponad 3000 lat historii. Co więcej, były one wykorzystywane jako surowiec lub ważny składnik w medycynie ajurwedyjskiej i tradycyjnej medycynie chińskiej. W Ajurwedzie gatunki *Berberis* były tradycyjnie stosowane w leczeniu infekcji ucha, oka i jamy ustnej, dla przyspieszenia gojenia ran, leczenia hemoroidów, niestrawności i czerwonki lub w leczeniu chorób macicy i pochwy. Były również stosowane w celu zmniejszenia otyłości i jako antidotum na leczenie ukąszenia skorpiona lub węża. Ekstrakty i wywary berberyny są tradycyjnie wykorzystywane przeciwko różnym mikroorganizmom, w tym bakteriom, wirusom, grzybom, pierwotniakom, robakom w ajurwedyjskich, chińskich i bliskowschodnich lekach ludowych [29]. Korzenie *Hydrastis canadensis* L. (rodzina *Ranunculaceae*), znany również jako *goldenseal*, były stosowane przez rdzennych Amerykanów jako silny środek przeciwzapalny, środek gojący rany i leczący biegunkę. W Iranie prawie wszystkie części *B. vulgaris* były używane w medycynie. Na przykład liście były stosowane miejscowo w leczeniu infekcji skóry i otarć. Wywary przygotowane z kory łądyg i korzeni były stosowane w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów i poprawy motoryki przewodu pokarmowego. Napary przygotowane z suszonych jagód i liści były używane w leczeniu biegunki [18].

W medycynie Yunani *Berberis asiatica* miał wiele zastosowań, takich jak leczenie astmy, żółtaczki, pigmentacji skóry i łagodzenie bólu zębów, a także do eliminacji stanów zapalnych i obrzęków oraz do leczenia wrzodów. Odwary z korzeni i łądygi kory pochodzącej z *Berberis aristata*, *B. chitria* i *B. lycium* (indyjskie gatunki *Berberis*), były stosowane jako domowe sposoby leczenia zapalenia spojówek lub innych chorób oczu, zapalenia wątroby i śledziony, krwotoków, żółtaczki i chorób skóry, takich jak wrzody. Z drugiej strony, wywar z berberysu indyjskiego zmieszanego z miodem był wykorzystywany również w leczeniu żółtaczki. Dodatkowo donoszono o stosowaniu wywaru z berberysu indyjskiego i *Emblic myrobalan* zmieszanego z miodem w leczeniu zaburzeń układu moczowego, takich jak bolesne oddawanie moczu. Co więcej, był on stosowany w leczeniu biegunki i zwalczaniu pasożytów jelitowych od czasów starożytnych. Inne zgłoszone zastosowanie dla roślin zawierających berberynę jest związane z używaniem ich jako środka ściągającego w celu obniżenia napięcia

skóry. Zaobserwowano również pozytywny wpływ na błony śluzowe górnych dróg oddechowych i układu pokarmowego oraz związane z tym dolegliwości. W Ameryce Południowej liście i kora gatunków z rodzaju *Berberis* są stosowane w tradycyjnej medycynie na chorobę wysokogórską, infekcje i gorączkę. Rodzaj *Mahonia* obejmuje kilka gatunków, które zawierają berberynę. Wśród nich *M. aquifolium* był tradycyjnie stosowany na różne schorzenia skóry. Ze względu na obecność głównego alkaloidu (berberyna) gatunek ten jest znany w medycynie azjatyckiej jako przejawiający aktywność przeciwdrobnoustrojową. *Coptidis rhizoma* (kłącza *Coptis chinensis*), kolejna roślina zawierająca berberynę, jest słynnym ziołem bardzo często stosowanym w tradycyjnej medycynie chińskiej do eliminacji toksyn, "zespołów wilgotnego ciepła", "oczyszczania ognia" i "oczyszczania wątroby z gorąca" [20].

Działanie farmakologiczne berberyny

W ostatnich dziesięcioleciach badania nad berberyną nie tylko potwierdziły znaczenie jej stosowania w tradycyjnej medycynie chińskiej, gdzie była stosowana w różnych chorobach, ale także udowodniły jej aktywność przeciwnowotworową i skuteczność w zaburzeniach neurologicznych i metabolicznych [23, 31]. Alkaloid ten ma niezwykle właściwości bioaktywne i farmakologiczne, takie jak działanie przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, przeciwtleniające, przeciwhipercholesterolemiczne, przeciwcukrzycowe i przeciwdrobnoustrojowe [2, 26, 30]. Współczesne badania wykazały, że działanie berberyny oparte jest na różnych mechanizmach. Jest to naturalny lek do zastosowań klinicznych w różnych chorobach i stanach patologicznych, takich jak: miażdżyca, rak, choroba Alzheimera, cukrzyca, PCOS (zespół policystycznych jajników), infekcje bakteryjne i wirusowe itp. Berberyna wykazuje szereg dobroczynnych właściwości m.in. na układ nerwowy. Jest uważana środkiem terapeutycznym zapobiegającym chorobie Alzheimera i opóźniający jej rozwój poprzez ograniczenie roli czynników ryzyka (nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, dyslipidemia), a także poprawę zespołu metabolicznego związanego z chorobą Alzheimera [6, 7, 15]. Berberyna zmniejsza liczbę przylegających monocytów do komórek śródbłonna i hamuje cytokiny prozapalne indukowane przez hiperglikemię i zaangażowane w rozwój blaszek miażdżycowych [4, 5, 31]. Berberyna również może poprawiać funkcje serca poprzez zwiększenie stężenia wapnia w komórkach mięśnia sercowego [1]. Stwierdzono, że berberyna wpływa na poziom cholesterolu we krwi [13], może również łagodnie obniżać ciśnienie tętnicze krwi i poziom glukozy we krwi. Badania pokazały, że berberyna może być potencjalnym lekiem służącym do leczenia otyłości poprzez zmniejszenie adipogenezy i lipogenezy, jak również zmniejsza liczbę i wielkość kropelek lipidów w adipocytach [1, 11]. Berberyna działa podobnie jak insulina, zwiększa wykorzystanie glukozy w tkankach, powodując spadek jej stężenia we krwi. Co więcej, berberyna oddziałuje na enzym AMPK, który obecny jest w większości komórek. Berberyna aktywuje AMPK w adi-

pocytach i komórkach mięśniowych oraz zmniejsza akumulację tłuszczu i poprawia wrażliwość na insulinę. Ma korzystny wpływ na kontrolę poziomu glukozy we krwi w leczeniu pacjentów z cukrzycą typu 2 i nie ma poważnych działań niepożądanych, z wyjątkiem łagodnego do umiarkowanego dyskomfortu żołądkowo-jelitowego [18]. Berberyna może wpływać na poprawę owulacji u kobiet z PCOS, a także poprawia wskaźnik ciąż w leczeniu IVF (zapłodnienie *in vitro*). Wykazano, że berberyna obniża poziom androgenów, testosteronu i wskaźnika wolnych androgenów u kobiet z PCOS [9, 10]. Berberyna wykazuje działanie antybakteryjne i bakteriobójcze, dlatego nazywana jest czasami roślinnym antybiotykiem. Działa również na niektóre grzyby, m.in. *Penicilium*, *Candida*, *Cryptococcus* i *Aspergillus* oraz przeciw pierwotniakom. Berberyna wspomaga również układ immunologiczny poprzez zapobieganie przyklejaniu się komórek chorobotwórczych do ludzkiego nabłonka. Badania *in vivo* na zwierzętach i badania kliniczne wykazały niską toksyczność i niewiele skutków ubocznych berberyny [10]. Dodatkowo, badania toksyczności *in vitro* wykazały, że nie ma ona znaczącego działania genotoksycznego, mutagennego ani cytotoksycznego [9]. Warto jednak pamiętać, że nie wszystkie skutki uboczne stosowania berberyny zostały w pełni poznane, pomimo że jest ona stosowana od tysięcy lat.

Pomimo słabej biodostępności, ograniczającej jej zastosowanie, berberyna jest obecnie oceniana w wielu ważnych badaniach klinicznych, co zachęca do głębszego zbadania mechanizmów jej działania i poszukiwania nowych zastosowań. Najbardziej obiecujące jest przeciwnowotworowe zastosowanie berberyny. Polega ono głównie na hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych i angiogenezy guza, indukowaniu apoptozy komórek nowotworowych i opóźnieniu transferu komórek nowotworowych. Berberyna nie tylko posiada udokumentowaną aktywność proapoptotyczną, która znajduje się w centrum zainteresowania, ale także wydaje się być bardzo ważnym i obiecującym związkiem w skojarzonym leczeniu nowotworów [34]. Niemniej jednak problem może stanowić dobór odpowiednio dużej dawki, która pozwoli na uzyskanie skutecznego działania berberyny na komórki nowotworowe u ludzi. Uczulenie i eliminacja lekooporności to bardzo obiecujące trendy w badaniach nad berberyną. Co więcej, berberyna wykazuje niską toksyczność wobec zdrowych komórek, co czyni ją bezpieczną do użytku klinicznego i dowodzi jej aktywności w zaburzeniach biochemicznych [14, 20]. Ze względu na niską biodostępność i słabe parametry farmakokinetyczne, rozpoczęto badania nad nowymi formami podawania berberyny i jej nowymi aktywnymi pochodnymi [17, 23]. Trzeba jednak zaznaczyć, że na rynku nie ma leków z berberyną. Wszystkie zarejestrowane preparaty to suplementy diety.

Antyoksydacyjne działanie berberyny

W normalnych warunkach organizm utrzymuje równowagę między czynnikami antyoksydacyjnymi i prooksydacyjnymi (reaktywne formy tlenu – RFT i reaktywne

formy azotu-RFN). Brak równowagi między pro- i przeciwutleniaczami występuje w przypadku zwiększonego stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny narasta poprzez kilka mechanizmów: wzrost produkcji reaktywnych form tlenu, spadek poziomu enzymów (m.in. katalazy, peroksydazy glutationowej, dysmutazy ponadtlenkowej) zaangażowanych w blokowanie działania związków prooksydacyjnych i/lub zmniejszenie ilości zmiataczy wolnych rodników. Badanie eksperymentalne wykazało wpływ berberyny na peroksydację lipidów po wywołaniu chemicznej kancerogenezy u małych zwierząt (szczurów). Zaobserwowano wzrost peroksydacji lipidów po indukcji kancerogenezy, ale także jego znaczące odwrócenie po podaniu berberyny (30 mg/kg). Berberyna wykazuje zatem właściwości przeciwutleniające ze względu na wpływ na peroksydację lipidów. Inne mechanizmy zaangażowane w antyoksydacyjną rolę berberyny to: zmiatanie RFT/RFN, wiązanie jonów metali katalizujących procesy utleniania niektórych substancji, usuwanie wolnego tlenu, zmniejszanie destrukcyjności jonów ponadtlenkowych i tlenku azotu lub zwiększenie działania przeciwutleniającego niektórych substancji endogennych. Działanie przeciwutleniające berberyny było porównywalne z działaniem witaminy C, silnego przeciwutleniacza. Wzrost poziomu cukru we krwi prowadzi do stresu oksydacyjnego nie poprzez generowanie reaktywnych form tlenu, ale poprzez upośledzenie mechanizmów antyoksydacyjnych. Podawanie berberyny szczurom z cukrzycą zwiększyło aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i obniżyło poziom dialdehydu malonowego, będącego markerem peroksydacji lipidów. Ten przeciwutleniający efekt berberyny może wyjaśnić poprawę funkcji nerek w nefropatii cukrzycowej. Stres oksydacyjny odgrywa ważną rolę w patogenezie wielu chorób. Korzystny wpływ berberyny przypuszczalnie wynika głównie z jej roli przeciwutleniającej [20].

Podsumowanie

Berberyna jest czwartorzędową solą amoniową z grupy alkaloidów benzyloizochinolinowych, która jest obecna w wielu roślinach leczniczych, szeroko stosowanych w tradycyjnej medycynie chińskiej od setek lat. Współczesne badania wykazały, że berberyna wykazuje szereg efektów farmakologicznych na drodze różnych mechanizmów. Jest to naturalny lek do zastosowań klinicznych w różnych chorobach i stanach patologicznych, takich jak miażdżycy, rak, choroba Alzheimera, cukrzyca, PCOS, infekcje bakteryjne i wirusowe itp. Ma bardzo niską toksyczność w zwykłych dawkach i ujawnia korzyści kliniczne bez większych skutków ubocznych. Może być potencjalnym źródłem przyszłych odkryć i rozwoju leków. W obecnych czasach obserwuje się ciągły wzrost i zainteresowanie naturalnymi produktami pochodnymi. Ponadto łatwo jest wprowadzić naturalne produkty zawierające berberynę do diety, ponieważ są one na tyle powszechne, że można je stosować profilaktycznie. Wciąż jednak potrzebne są

dalsze badania, aby w pełni zrozumieć skuteczność i dawkowanie berberyny w badaniach klinicznych.

Literatura


- [1] Affuso F., Mercurio V., Fazio V., Fazio S.: Cardiovascular and metabolic effects of Berberine. *World J. Cardiol.*, 2010, 2(4), 71-77.
- [2] Amritpal S., Sanjiv D., Navpreet K., Jaswinder S.: Berberine: Alkaloid with wide spectrum of pharmacological activities. *J. Nat. Prod. (India)*, 2010, 3, 64-75.
- [3] Ahmed T., Abdollahi M., Daglia M., Nabavi S. F., Nabavi S. M.: Berberine and neurodegeneration: A review of literature. *Pharmacol. Rep.*, 2015, 67(5), 970-979.
- [4] Bagade A., Tumbigeremutt V., Pallavi G.: Cardiovascular effects of Berberine: A review of the literature. *J. Restor. Med.*, 2017, 6, 37-45.
- [5] Cai Y., Xin Q., Lu J., Miao Y., Lin Q., Cong W., Chen K.: A new therapeutic candidate for cardiovascular diseases: Berberine. *Front. Pharmacol.*, 2021, 12, 631100.
- [6] Cai Z., Wang C., Yang W.: Role of berberine in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, 2016, 12, 2509-250.
- [7] Cheng Z., Kang C., Che S., Su J., Sun Q., Ge T., Guo Y., Lv J., Sun Z., Yang W., Li B., Li X., Cui, R.: Berberine: a promising treatment for neurodegenerative diseases. *Front. Pharmacol.*, 2022, 13, #845591.
- [8] Cui H. X., Hu Y. N., Li J. W., Yuan K., Guo Y.: Preparation and evaluation of antidiabetic agents of berberine organic acid salts for enhancing the bioavailability. *Molecules*, 2018, 24(1), #103.
- [9] Gan R-Y.: Bioactivities of berberine: An update. *Int. J. Modern Biol. Med* 1.1 2012, 48-81.
- [10] Guamán Ortiz L. M., Lombardi P., Tillhon M., Scovassi A. I.: Berberine, an epiphany against cancer. *Molecules*, 2014, 19(8), 12349-12367.
- [11] Habtemariam S.: Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link. *Pharmacol. Res.*, 2020, 155, 104722.
- [12] Hadaruga D. I., Hadaruga N. G., Bandur G. N., Ravis A., Costescu C., Ordodi V. L.: Berberis vulgaris extract/ β cyclodextrin nanoparticles synthesis and characterization. *Revista de Chimie*, 2010, 61(7), 669-675.
- [13] Hu Y., Ehli E. A., Kittelsrud J., Ronan P. J., Munger K., Downey T., bohlen K., Callahan L., Munsin V., Jahnke M., Marshall L. LI, Nelson K., Huizenga P., Hansen R., Soundy T. J., G. E.: Lipid-lowering effect of berberine in human subjects and rats. *Phytomed.*, 2012, 19(10), 861-867.
- [14] Kheir M. M., Wang Y., Hua L., Hu J., Li L., Lei F., Du L.: Acute toxicity of berberine and its correlation with the blood concentration in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2010, 48(4), 1105-1110.
- [15] Kumar A., Chopra K., Mukherjee M., Pottabathini R., Dhull D. K.: Current knowledge and pharmacological profile of berberine: an update. *Eur. J. Pharmacol.*, 2015, 761, 288-297.
- [16] Lin X., Zhang, N.: Berberine: Pathways to protect neurons. *Phytother. Res.*, 2018, 32(8), 1501-1510.
- [17] Liu C. S., Zheng Y. R., Zhang Y. F., Long X. Y.: Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability. *Fitoterapia*, 2016, 109, 274-282.
- [18] Luo A., Fan Y.: Antioxidant activities of berberine hydrochloride. *J. Med. Plants Res.*, 2011, 5(16), 3702-3707.
- [19] Murakami T., Bodor E., Bodor N.: Approaching strategy to increase the oral bioavailability of berberine, a quaternary ammonium isoquinoline alkaloid: part 2. development of oral dosage formulations. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 2023, 19(3), 139-148.

- [20] Neag M. A., Mocan A., Echeverria J., Pop R. M., Bocsan C. I., Crişan G., Buzoianu, A. D.: Berberine: Botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders. *Front. Pharmacol.*, 2018, 9, #557.
- [21] Och A., Podgórski R., Nowak R.: Biological activity of berberine – a summary update. *Toxins*, 2020, 12(11), #713.
- [22] Petrangolini G., Corti F., Ronchi M., Arnoldi L., Allegrini P., Riva A.: Development of an innovative berberine food-grade formulation with an ameliorated absorption: In vitro evidence confirmed by healthy human volunteers pharmacokinetic study. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, 2021, 27, #7563889.
- [23] Petronio G., Cutuli M. A., Magnifico I., Venditti N., Pietrangelo L., Vergalito F., Di Marco, R.: In vitro and in vivo biological activity of berberine chloride against uropathogenic *E. coli* strains using *Galleria mellonella* as a host model. *Molecules*, 2020, 25(21), #5010.
- [24] Prajwala, B., Raghu, N., Gopenath, T. S., Shanmukhappa, B., Karthikeyan, M., Ashok, G., Ranjith MS., Srinivasan V., Kanthesh, M. B.: Berberine and its pharmacology potential: a review. *Eur. J. Biomed.*, 2020, 7, 115-23.
- [25] Raju M., Kulkarni Y. A., Wairkar S.: Therapeutic potential and recent delivery systems of berberine: A wonder molecule. *Journal of functional foods*, 2019, 61, #103517.
- [26] Rauf A., Abu-Izneid T., Khalil A. A., Imran M., Shah Z. A., Emran T. B., Mitra S., Khan Z., Alhmaydhi F. A., Aljohani A. S. M., Khan I, Rahman Md. M., Jeandet P., Gondal, T. A.: Berberine as a potential anticancer agent: A comprehensive review. *Molecules*, 2021, 26(23), #7368.
- [27] Rui R., Yang H., Liu Y., Zhou Y., Xu X., Li C., Liu, S.: Effects of berberine on atherosclerosis. *Front. Pharmacol.*, 2021, 12, #764175.
- [28] Schulz E. R.: Berberine in the common barberry (*Berberis vulgaris* L.). *J. Am. Pharmaceut. Assoc.*, 1926, 15(1), 33-39.
- [29] Siow Y. L., Sarna L., Karmin O.: Redox regulation in health and disease – Therapeutic potential of berberine. *Food Res. Int.*, 2011, 44(8), 2409-2417.
- [30] Song D., Hao J., Fan D.: Biological properties and clinical applications of berberine. *Front. Med.*, 2020, 14, 564-582.
- [31] Tajiri M., Yamada R., Hotsumi M., Makabe K., Konno H.: The total synthesis of berberine and selected analogues, and their evaluation as amyloid beta aggregation inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, 215, #113289.
- [32] Teng H., Choi, Y.: Optimum extraction of bioactive alkaloid compounds from Rhizome *Coptidis* (*Coptis chinensis* Franch.) using response surface methodology. *Solvent Extr. Res. Dev. Jpn.*, 2013, 20, 91-104.
- [33] Vuddanda P. R., Chakraborty S., Singh, S.: Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 2010, 19(10), 1297-1307.
- [34] Xia LM, Luo MH.: Study progress of berberine for treating cardiovascular disease. *Chron. Disea. Trans. Med.*, 2015, 1(4), 231-235.
- [35] Zhang C., Sheng J., Li G., Zhao L., Wang Y., Yang W., Yao X., Sun L., Zhang Z., Cui, R.: Effects of berberine and its derivatives on cancer: A systems pharmacology review. *Front. Pharmacol.*, 2020, 10, #1461.

BERBERINE - BIOACTIVE COMPOUND OBTAINED FROM MEDICINAL PLANTS**S u m m a r y**

Background. Berberine is a plant metabolite belonging to the isoquinoline alkaloid group with potent biological and pharmacological activity. It is widely present in medicinal plants, especially in the genus *Berberis*. Currently, berberine is of great interest due to its anticancer activity resulting from the inhibition/stimulation of multiple biochemical pathways.

Results and conclusions. Studies have shown that berberine has also antidiabetic, antimicrobial, antiviral effects. It is a natural drug for clinical applications in various diseases and pathological conditions, such as atherosclerosis, cancer, Alzheimer's disease, diabetes, PCOS, bacterial and viral infections, etc. Therefore, a growing number of papers on berberine calls for a summary of knowledge and research trends. Many papers focus on new therapeutic strategies based on new formulations or the search for new active derivatives. Berberine activity is very important for the sensitization and support of anticancer therapy in combination with well-known, but in some cases ineffective, therapeutics. Nowadays, there is a continuous growth and interest in natural derivatives, therefore, berberine could be a potential source for future discoveries and drug development. However, further research is still needed. Currently, the compound in question is being evaluated in a number of important clinical trials and is one of the most promising and intensively researched natural substances. The main aim of this review is to summarize the knowledge concerning berberine, a plant constituent that is not much known, but has a wide range of pharmacological properties. In this work, berberine is discussed in terms of its occurrence, traditional use, pharmacological and antioxidant properties.

Keywords: : berberine, bioactivity, alkaloid 

ANNA PILISZEK, ADRIANNA SZPRYNCA, EMILIA BAGNICKA

ROZWÓJ BADAŃ W DZIEDZINIE BIOINŻYNIERII I BIOTECHNOLOGII

Streszczenie

Wprowadzenie. Nauka rozwija się od niepamiętnych czasów. W wyniku ciekawości, obserwacji, czy chęci poprawy poziomu życia przez wieki tworzono i tworzy się różne techniki i metody wykorzystywane w każdej dziedzinie nauki. Dzięki temu możliwy był rozwój biotechnologii, a następnie bioinżynierii. Zmiany w przemyśle rozpoczynają się od prac laboratoryjnych. W artykule przedstawione zostały najbardziej istotne i najczęściej stosowane metody i techniki wykorzystywane w laboratoriach, historia ich powstania oraz ich zastosowania obecnie i potencjalne użytkowanie w przyszłości. Techniki te dotyczą różnych sfer życia i polegają na ingerencji w życie zwierząt, jak krzyżowanie czy transformacje genetyczne, bądź na manipulacjach prowadzonych na pozyskanym od nich materiale.

Wyniki i wnioski. Dzięki badaniom na zwierzętach możliwa jest poprawa jakości ludzkiego życia, zwłaszcza osób chorych. Jednak należy pamiętać, że zwierzęta to również istoty czujące i nie można ich nadmiernie eksploatować. Należy zapewnić im odpowiednie warunki bytowania pozwalające na zapewnienie dobrostanu. Opracowanie i wdrażanie nowych regulacji prawnych i zasad 3R, a także rozwój nowoczesnych technik hodowli komórkowych i tkankowych pozwala obecnie na ograniczenie wykorzystania inwazyjnych procedur w badaniach na zwierzętach. Nie sposób wymienić i opisać wszystkie istotne metody i techniki, które są aktualnie lub będą w przyszłości praktykowane i rozwijane. Nauka ma jeszcze przed sobą wiele do odkrycia, opracowania i zaoferowania praktyce.

Słowa kluczowe: *in vitro*, GMO, biotechnologia, bioinżynieria, modyfikacje genetyczne

Wprowadzenie

Bioinżynieria to intensywnie rozwijająca się dziedzina biotechnologii, zajmująca się rozwiązywaniem problemów oraz poprawą jakości większości sfer dzisiejszego życia, nie tylko człowieka, ale i zwierząt. Wykorzystuje ona zarówno metody analityczne, molekularne, instrumentalne, komputerowe, jak i inżynierię genetyczną przy użyciu materiału jakim są żywe organizmy i systemy biologiczne [9]. Korzysta się nie tylko i wyłącznie z zasobów jakimi są tkanki i narządy zwierząt i roślin, ale także

z obserwacji ich behawioru czy analizowania budowy anatomicznej. Wykorzystuje się również prostsze organizmy, przeważnie mikroorganizmy, takie jak bakterie czy grzyby. Modyfikacje genetyczne zarówno roślin, jak i zwierząt, są dokonywane od tysięcy lat poprzez zabiegi hodowlane (rozmnażanie osobników/organizmów o cechach pożądanых, a eliminacja tych o nieodpowiednim fenotypie). Stosowane są również inne modyfikacje, jak indukowana mutageneza, polegająca na celowym uszkodzeniu DNA, w celu wywołania konkretnych efektów, np. usunięciu zasad azotowych czy spowodowaniu pęknięć między danymi fragmentami nici. Metody biotechnologiczne towarzyszą człowiekowi od wieków – począwszy od produkcji sera, piwa czy chleba. Proces tworzenia organizmów modyfikowanych genetycznie (ang. *Genetically Modified Organisms* - GMO) jednak przyspieszył, odkąd modyfikacje te prowadzone są w laboratoriach.

Początki w biotechnologii

Jak wspomniano, metody bioinżynierii są wykorzystywane przez człowieka od tysięcy lat, ale obecnie to coraz bardziej popularna i intensywnie rozwijająca się dziedzina biotechnologii, zajmująca się rozwiązywaniem problemów oraz poprawą jakości w większości sfer dzisiejszego życia człowieka i zwierząt.

Jednym z pierwszych produktów otrzymywanych dzięki intuicyjnemu wykorzystaniu metod biotechnologicznych jest ser. Był on już prawdopodobnie produkowany we wczesnym neolicie, a najstarsze archeologiczne znaleziska w Polsce pochodzą z terenu dzisiejszych Kujaw (okres datowany na 5300 ÷ 4900 lat p.n.e.). Produkowano wtedy ser przy pomocy sit, wyglądem przypominających dzisiaj używane [38]. W 1860 roku odkryto związek między drożdżami a powstawaniem etanolu i dwutlenku węgla. Proces przekształcania cukru w te związki nazwany został fermentacją. Fermentacja była jednak wykorzystywana już w starożytności jako skuteczna metoda zachowania jakości i trwałości napojów i żywności [52]. Według odkryć archeologicznych pierwsze fermentowane napoje produkowano w neolicie (ok. 7000 lat p.n.e.) w Chinach, głównie z ryżu [37] oraz w Mezopotamii i starożytnym Egipcie (ok. 5400 ÷ 5000 r. p.n.e.), najczęściej z owoców (wino), słođu zbożowego (piwo) oraz miodu (miód pitny) [36]. Chleb to również jeden z najstarszych produktów spożywczych. Ziarna pszenicy odnajdywano w ludzkich osadach datowanych na 8000 lat p.n.e., zaś bochenki, bułki i zakwas chlebowy zostały zidentyfikowane przez archeologów w starożytnym Egipcie [49]. Modyfikacje składu chleba przez tysiące lat pozwoliły na przetrwanie tego pokarmu do dzisiaj, dzięki czemu obecnie jest on podstawą diety europejskiej, pozostając również popularnym pokarmem w innych częściach świata.

Rozwój nauk biologicznych

Zainteresowanie biotechnologią rośnie systematycznie od XVII w., czyli od czasów wielkich odkryć naukowych, a później rozwoju techniki. Wielkim przełomem dla nauk biologicznych i samego tworzenia się biotechnologii, którą dziś znamy, były przede wszystkim wszelakie dokonania w aspekcie poznania anatomii człowieka i zwierząt, czy badanie struktur komórkowych [43]. Zainteresowanie budową ludzkiego ciała „od środka” miało swój początek, tak jak wszystko, od zwierząt. Ze względu na to, że zwierzęta przez bardzo długi czas były traktowane jako stworzenia nierozumne, gorsze od człowieka, a często też uważano, że nie odczuwają bólu czy strachu, były wykorzystywane do wszelkich prac, wyręczając człowieka. Często jednak traktowane były bez szacunku. Na zwierzętach prowadzono liczne badania medyczne, sprawdzając np. szkodliwość różnych substancji, czy wykonując wiwisekcję (sekcja za życia). Wykorzystywano także ich zwłoki. Sekcje zwierząt są prowadzone od bardzo dawna w procesie edukacji [3]. Jednym ze znanych uczonych, wykonujących sekcję zwłok zwierząt w procesie nauczania, był belgijski lekarz Andreas Vesalius, który w ten sposób przygotowywał studentów medycyny do pracy [1].

W czasie wielkich odkryć naukowych trwał również intensywny rozwój techniki. Jednym z ważniejszych, w aspekcie biotechnologii, był rozwój prac nad soczewkami do okularów, co pozwoliło na skonstruowanie pierwszego teleskopu i prymitywnego mikroskopu przez Galileusza (1564 - 1642 r.) ok. 1610 roku. Rzeczywistymi wynalazcami mikroskopu są jednak Zacharias Janssen (1580 - 1632 r.) oraz jego ojciec, Hans Janssen (koniec XVI wieku), a sposób użytkowania i jego budowę opisał Robert Hooke (1635 - 1703 r.). Natomiast mikroskop badawczy został skonstruowany przez Antoniego Leeuwenhoeka (1632 ÷ 1723 r.), z możliwością powiększenia obiektu do 240 razy. Dzięki temu opisał on m.in. systemy kanalików w kościach, prążkowanie mięśni, plemniki oraz drobne stworzenia w kropli wody [3].

Największym przełomem w rozwoju nauki o podłożu molekularnym było najprawdopodobniej odkrycie struktury DNA [64] przez Jamesa Watsona (ur. 1928 r.), Francisca Cricka (1916 - 2004 r.), Maurice Wilkina (1916-2004 r.) i Rosalind Franklin (1920 - 1958 r.) w 1953 roku oraz w dalszej kolejności zasad azotowych w 1961 roku [63] i opracowanie metod sekwencjonowania DNA przez zespoły Waltera Gilberta (ur. 1932 r.) i Fredericka Sangera (1918 - 2013 r.) od 1968 r. [50]. Pozwoliło to na wprowadzanie modyfikacji w materiale genetycznym na różną skalę, opracowanie terapii genowych, a także rozwój badań potwierdzających lub wykluczających obecność takiego materiału na miejscach zbrodni (kryminalistyka), czy w identyfikacji rodzicielstwa [21]. Były to przełomowe badania, dzięki którym można poznać sekwencje genów kodujących poszczególne białka oraz zidentyfikować mutacje w całym genomie. Pozwala to na lepszą diagnostykę i wybór sposobu leczenia pacjentów dotkniętych różnymi chorobami o podłożu genetycznym. Opracowano techniki umożliwiające re-

kombinację DNA poprzez bezpośrednią modyfikację materiału genetycznego pojedynczego organizmu i tym samym wprowadzenia zmian w całej populacji, np. w celu uodpornienia na daną chorobę całego gatunku. Techniki te są nazywane inżynierią genetyczną.

Transformacje genetyczne

Transgeneza, wynaleziona po rekombinacji DNA, umożliwia transformację genetyczną wybranych gatunków roślin poprzez wprowadzanie do nich genów z innych roślin i organizmów. Wśród cytrusów uzyskano wiele udanych transformacji, wprowadzając do genomu roślin geny antybiotykowe i reporterowe, przyspieszające ich dojrzewanie oraz geny zwiększające odporność na choroby i poprawiające jakość owoców. Transgeniczne grejpfruty i słodkie pomarańcze są odporne na *Xanthomonas citri* ssp. *citri* (Gram-ujemne proteobakterie w kształcie pałeczek), powodujące raka tych roślin. Uzyskano to dzięki wprowadzeniu do tych roślin genu *AtNPR1* (gen rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*)), kodującego receptor natriuretyczny peptydu A (ang. *arabidopsis natriuretic peptide receptor A*) lub jego homologa *CtNHI* (gen cytrusowy kodujący natriuretyczny receptor peptydowy 1 – ang. *citrus gene coding NPR1 - Natriuretic Peptide Receptor 1*), pochodzących z pomarańczy olbrzymiej (*Citrus maxima*) [58]. Liście tytoniu wykazują specyficzną odporność na zakażenia mozaikowym wirusem lucerny (AMV – ang. *Alfalfa mosaic virus*) po wprowadzeniu do nich wektorów składających się z chimerycznych genów enzymu fosfotransferazy neomycyny II (NPTII – ang. *neomycin phosphotransferase II enzyme*) oraz białek płaszczka wirusa AMV, będących pod kontrolą promotora 19S (CaMV – ang. *Cauliflower mosaic virus*), pochodzących od glebowych bakterii Gram-ujemnych (*Agrobacterium tumefaciens* – pałeczkowata, fitopatogeniczna bakteria z rodziny *Rhizobiaceae*) [27]. Pojawił się również pomysł, aby do genomu rzodkiewnika pospolitego włączyć gen bakterii produkujących witaminę B12 (z rodzaju *Propionibacterium*) oraz gen człowieka odpowiedzialny za produkcję glikoproteiny wytwarzanej w jelitach, będącej nośnikiem witaminy B12, tzw. *Intrinsic Factor*. Wytworzenie syntetyzowanego w ten sposób białka miało zostać spożytkowane do produkcji preparatów mających na celu zapobieganie niedoborowi tej witaminy. Wniosek o zatwierdzenie tej modyfikacji został złożony do Europejskiego Urzędu Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [32, 66], jednak od daty złożenia w 2008 r. nie pojawiła się żadna informacja o postępach w jego weryfikacji.

U zwierząt wprowadzanie jakichkolwiek zmian w genomie, nawet w celu uodpornienia ich lub usunięcia z populacji danej choroby, wiąże się z krytyką społeczeństwa na temat etyki tego działania, a także bezpieczeństwa pochodzących od tych zwierząt produktów przeznaczonych do konsumpcji. Jednak podejmowane były próby eliminacji chorób niektórych zwierząt. Przykładem mogą być brojlery. Badana była

zależność między wprowadzeniem cDNA, pochodzącego z konserwatywnej końcowej sekwencji 3' i 5' (dokładniej struktury "spinki do włosów") genomu wirusa grypy typu A (IAV – ang. *influenza A virus*), atakującego w większości ptaki, a zakażeniem przez wirusa ptasiej grypy (HPAI – ang. *Highly Pathogenic Avian Influenza*). Niestety, brojlery były podatne na zakażenie wirusem, a śmiertelność wśród nich była zbliżona do obserwowanej wśród nietransgenicznych kurczaków. Jednakże wykazano, iż wirus z tak zmodyfikowanych zwierząt był przenoszony w mniejszym stopniu na inne zwierzęta [33]. Niestety modyfikacje genetyczne nie mogą być skutecznym sposobem przeciwdziałania chorobom o podłożu wieloczynnikowym. W chowie bydła jedną z chorób powodujących znaczne straty ekonomiczne jest zapalenie wymienia (łac. *mastitis*). Ze względu na liczbę wywołujących ją czynników etiologicznych oraz niską dziedziczność odporności na tę chorobę (jedynie ok. 10 % to wpływ czynników genetycznych) aktualnie nie jest możliwe przeciwdziałanie jakkolwiek techniką inżynierii genetycznej.

Postęp biotechnologii możliwy jest m.in. dzięki rozwojowi technik transgenezy. Jedno z istotnych wyzwań stanowi opracowanie metod wprowadzania obcego materiału genetycznego do komórek. W przypadku komórek zwierzęcych (w tym ludzkich), dominują techniki mikromanipulacyjne, w tym metoda mikroiniekcji. Od początku lat 80. starano się uzyskać swoistą i powtarzalną technikę w zakresie transgenezy. Zespoły: Richarda D. Palmitera (ur. 1942 r.), a wcześniej Johna Williama Gordona (praca opublikowana w 1980 r.) [23] stosowały metodę mikroiniekcji, czyli iniekcji (zastrzyk) dokomórkowej pod mikroskopem, polegającej na wprowadzeniu egzogenego DNA do przedjądrza zygoty. Techniki transgenezy poprzez mikroiniekcję podlegają ciąglemu ulepszaniu i dotychczas pozwoliły na otrzymanie transgenicznych zwierząt różnych gatunków, jak króliki, świnię, bydło, owce i kozy, u których uzyskano ekspresję różnych genów z wprowadzonego DNA, kodujących m.in. hormon wzrostu czy też białko zielonej fluorescencji (GFP) [19, 28].

Metody inżynierii genetycznej

Inżynieria genetyczna pozwala na identyfikację, replikację, modyfikację, czy też transfer materiału genetycznego komórek, tkanek, jak również całych organizmów w przypadku bakterii [41]. Głównie wykorzystuje się bezpośrednią manipulację DNA, ukierunkowaną na ekspresję poszczególnych genów, wykorzystując przy tym np. transdukcję przy użyciu zmodyfikowanych wirusów (m.in. retrowirusów) w celu przeniesienia danego fragmentu kodującego wybrany gen do komórki gospodarza. Polega to więc np. na rozpoznawaniu specyficznych fragmentów DNA do selekcji w celu zwiększenia efektywności metod hodowli, opierających się na informacji fenotypowej [29, 30]. Również na jej podstawie dobierać będzie można odpowiednio terapię genową do leczenia chorób o podłożu genetycznym (głównie u ludzi), jak np. mukowiscy-

doza, poprzez zastępowanie u niemowląt lub jeszcze w życiu prenatalnym nieprawidłowych kopii genów prawidłowymi. Natomiast w celu wykrycia miejsc w genomie, w których zmiany są odpowiedzialne za wywołanie danej choroby oraz modelowania takich chorób – wywołania konkretnej choroby u zwierzęcia lub w komórkach/tkankach w celu zbadania mechanizmu jej działania [4] czy też odkrywania funkcji określonych miejsc, wykorzystywane są zmodyfikowane genetycznie zwierzęta, przede wszystkim myszy, szczury i inne zwierzęta laboratoryjne [41]. Ich modyfikacja polega najczęściej na wyłączeniu działania jednego lub kilku wybranych genów (tzw. technika “*knock-out*”) w celu wywołania badanej choroby. Przykładem choroby, której leczenie podejmuje się w oparciu o wyniki uzyskane z wykorzystaniem inżynierii, jest stwardnienie zanikowe boczne (ALS – ang. *amyotrophic lateral sclerosis*). ALS to śmiertelna choroba, dotycząca zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, głównie oddziałująca na układ ruchu. Przyjmuje się, że około 20 % przypadków, związanych z uwarunkowaniami genetycznymi, jest spowodowane mutacją w genie kodującym dysmutazę ponadtlenkową - *SOD1* (ang. *superoxide dismutase 1*) i usytuowanym w chromosomie 21. Wśród opracowywanych metod leczenia ALS aktualnie wykorzystuje się podawanie pacjentom ASO, czyli antysensownych oligonukleotydów (jednoniciowych fragmentów kwasu nukleinowego) o długości 13 ÷ 25 nukleotydów, selektywnie wiążących się i oddziałujących z mRNA, wpływając na przebieg translacji oraz adenowirusy z insulinopodobnym czynnikiem wzrostu (IGF), a także wykorzystując metodę CRISPR/Cas. Adenowirusy są uznawane za przyszłość leczenia rzadkich schorzeń ze względu na ich wysoką skuteczność w transdukcji (wprowadzanie genów przez bakteriofagi) neuronów. Badana była również skuteczność leczenia endonukleazą Cas9, związaną z regularnie rozstawionymi, krótkimi powtórzeniami palindromowymi, czyli fragmentami sekwencji DNA, w których nić wiodąca i komplementarna są identyczne w tym samym kierunku (CRISPR). Ekspresja genu kodującego białko SOD1 u myszy była zakłócona przy użyciu adenowirusów jako wektorów ekspresyjnych krótki Cas9, pochodzący z *S. aureus* oraz jednokierunkowego RNA skierowanego do drugiego eksonu *SOD1*. Spowodowało to wydłużenie życia chorych myszy o 30 dni, jednak u ludzi wywołało negatywne skutki [7].

Dzięki inżynierii genetycznej tworzone są także biblioteki DNA. Pozwalają one na zachowanie genomów i genów wybranych gatunków, w tym zagrożonych wyginięciem. W przypadku krótkich fragmentów DNA istotne jest ich oczyszczenie, zaś większe fragmenty (powyżej 40 kbp) ulegają degradacji. Stąd używa się do tego celu unieruchomionych komórek, protoplastów czy jąder komórkowych zawieszonych w bloczkach żelu agarozowego. Żel pozwala na utworzenie sieci przestrzennej, zabezpieczającej DNA przed uszkodzeniem oraz umożliwia dyfuzję odczynników. Unieruchomione komórki są poddawane kolejno hydrolizie poprzez trawienie proteinazą K w obecności sarkozyli. DNA zostaje uwolniony i jest poddawany częściowej hydroli-

zie enzymami restrykcyjnymi. Przed wprowadzeniem do wektorów, fragmenty DNA są poddane selekcji ze względu na wielkość przez rozdział elektroforetyczny w pulsacyjnym polu elektrycznym. U roślin dodatkowym utrudnieniem przy pobieraniu materiału genetycznego do utworzenia bibliotek jest specyfika ściany komórkowej, której budowa znacznie różni się od budowy błony komórkowej komórek zwierzęcych. Sposoby na tworzenie bibliotek DNA w ich przypadku to niepełna hydroliza enzymatyczna, czyli wcześniejsze przerwanie hydrolizy restrykcyjnej prowadzące do wstrzymania przecięcia wszystkich sekwencji rozpoznawanych przez enzym [65].

Warto przybliżyć wspomnianą już metodę, posiadającą duży potencjał w leczeniu chorób uwarunkowanych genetycznie, czyli CRISPR/Cas9. Jest to metoda edycji genów potencjalnie umożliwiająca precyzyjne przeprowadzanie modyfikacji genetycznych *in vivo*, w tym wprowadzanie napraw w zmienionych (najczęściej dziedzicznych lub patologicznych) częściach genomu. System ten został odkryty u bakterii *E. coli* na przełomie XX i XXI w. U bakterii służy on ochronie przed wirusami poprzez proces usuwania wprowadzonego przez wirusa do genomu bakteryjnego przez jego wycięcie i naprawę zmienionych fragmentów. Skrót CRISPR oznacza zgrupowane, regularnie rozmieszczone powtórzenia palindromiczne (ang. *Clustered regularly interspaced palindromic repeats*). CRISPR rozpoznaje takie miejsca, natomiast białko Cas9, z rodziny Cas, jako endonukleaza przecina obie nici DNA, w tym przypadku plazmidu bakteryjnego. Naprawa DNA odbywa się na dwa sposoby. Pierwszy to łączenie niehomologicznych końców, co najczęściej prowadzi do losowej insercji/delecji DNA. Drugi to naprawa ukierunkowana na homologię, gdzie homologiczny fragment DNA jest wykorzystywany jako matryca do naprawy, co umożliwia precyzyjną edycję genomu, nawet na poziomie pojedynczej pary zasad. W laboratoriach metodę CRISPR/Cas9 wykorzystuje się najczęściej do generowania modeli komórkowych i zwierzęcych oraz do obrazowania genomu, a w przyszłości prawdopodobnie do terapii genowych, leczenia chorób zakaźnych, związanych z włączaniem się do genomu innego materiału genetycznego, np. wirusowego jak w przypadku HIV oraz leczenia zmienionych chorobowo komórek, takich jak komórki nowotworowe. Metoda daje dużo możliwości, w tym naprawę błędów DNA w obrębie genomu oraz naprawę takich obszarów w zarodkach zwierzęcych, w przyszłości również i ludzkich [48].

Inżynieria genetyczna umożliwia posługiwanie się wieloma złożonymi technikami laboratoryjnymi, a jej ciągły rozwój pozwoli na duże zmiany w medycynie. W dalszym ciągu trwają prace nad wykorzystywaniem zwierząt transgenicznych jako bioreaktorów. Badania są skupione przede wszystkim na zwierzętach gospodarskich, na co dzień użytkowanych mlecznie (krowy i kozy). Odpowiednio zmodyfikowane organizmy mają możliwość wydzielania wraz z mlekiem specyficznych białek ludzkich, np. hormonów takich jak insulina, co daje możliwość ułatwienia terapii w przypadku licznych chorób [62]. Laktoferyna jest już wytwarzana przez transgeniczne krowy w cyklu

produkcyjnym dla firmy Pharming. Białko jest pozyskiwane z mleka, a następnie odpowiednio oczyszczane. Innym przykładem jest synteza erytropoetyny przez transgeniczne świnię (900 IU/ml) oraz nietransgeniczne kozy (2mg/ml) [60].

Innymi przykładami możliwości zastosowania tych technik w przyszłości jest wykorzystanie zwierząt do ksenotransplantacji oraz zmiana częstotliwości występowania konkretnych alleli u zwierząt gospodarskich. Transplantacje z wykorzystaniem narządów zwierząt to trudny temat badań. Stworzenie populacji zwierząt, z których byłaby możliwość przeszczepu narządów ludziom zrewolucjonizowałoby tę dziedzinę, zważywszy, że niewielu jest dawców. Jest to spowodowane faktem, iż w Polsce w dalszym ciągu, mimo zezwoleń prawnych, lekarze pytają o zgodę na pobranie narządów najbliższych zmarłego, ci natomiast najczęściej nie wyrażają jej. Często dlatego, że wiąże się to z podjęciem decyzji o odłączeniu pacjenta od urządzeń podtrzymujących funkcjonowanie organizmu. Badania na temat transplantologii narządów pobranych od zwierząt prowadzone są głównie na świniach, ze względu na ich anatomiczne i fizjologiczne podobieństwo do człowieka. Główny problem, nad którym wciąż trwają prace badawcze, to pokonanie bariery immunologicznej. Mimo ok. 95 % zbieżności genomu świńskiego z ludzkim i stosowania leków immunosupresyjnych, w dalszym ciągu dochodzi do odrzucania przeszczepów przez główny układ zgodności tkankowej [24, 59].

W 2022 roku, mimo wszystko dokonano pierwszego udanego przeszczepu serca genetycznie zmodyfikowanej świni 57-letniemu Amerykaninowi, w Uniwersyteckim Szpitalu w Maryland w Baltimore (USA). Jego serce nie było już w stanie prawidłowo funkcjonować. Celem przeszczepu było umożliwienie przedłużenia czasu oczekiwania na odpowiedniego, ludzkiego dawcę serca. Niestety pacjent zmarł po dwóch miesiącach, ale można uznać, że cel został osiągnięty, gdyż serce świni funkcjonowało dobrze i nie było oznak ostrego odrzucenia narządu. W przypadku innego pacjenta ten czas mógłby okazać się wystarczający. Przyczyną niepowodzenia mogła być obecność cytomegalowirusa świń (PCMV), który jest wirusem różyczki świńskiej (PRV), którego wysokie miano zanotowano u pacjenta pomimo podawania leków przeciwwirusowych po zaobserwowaniu w 20. dniu od przeszczepu objawów zarażenia [47]. We wrześniu 2023 roku ten sam zespół chirurgów dokonał przeszczepu drugiemu pacjentowi, który cierpiał na nieuleczalną chorobę serca i inne schorzenia, unikając błędów poprzedniego zabiegu. Jego stan zdrowia nie kwalifikował go do programu transplantacyjnego, w których wykorzystywane są narządy dawców ludzkich. Niestety, pacjent zmarł po ponad pięciu tygodniach od operacji. Przez pierwszy miesiąc wszczepiony narząd pracował prawidłowo, jednak później symptomy wykazywały na odrzucenie [71].

Prace nad uzyskaniem świń, z których tkanki byłyby możliwe do wykorzystania w ksenotransplantacji, są prowadzone od lat 90. XX w. Badania polegają na usunięciu

z tkanki mięśniowej serca cukru – oligosacharydu α -Gal, nieobecnego w ludzkim organizmie. U człowieka występują ksenoreaktywne przeciwciała reagujące na obecny na powierzchni świńskich komórek antygen GAL. Jest to uzyskiwane na dwa sposoby. Pierwszy to wyeliminowanie z genomu genu α 1,3-galaktozylotransferazy (*GT-KO*, *KO* od ang. *knock-out*, odnoszącego się do usunięcia genu), którego produkt syntetyzuje ten cukier, zaś drugi to wprowadzenie genetycznych modyfikacji w postaci indukcji ludzkich białek regulujących (wyłączających) ekspresję genu *GT*. W tkance mięśnia sercowego, wykorzystanego do przeprowadzenia omawianej transplantacji, cukier ten nie był syntetyzowany dzięki usunięciu genu *GT* z genomu świni [53].

W Polsce pionierem transplantologii był prof. Zbigniew Religa (1938 - 2009 r.), który dokonał w 1985 roku pierwszej udanej transplantacji serca od zmarłego pacjenta oraz pierwszego równoczesnego przeszczepu serca i płuca. Zaproponował również hodowle świń transgenicznych w Polsce, aby inni pacjenci przeżyli więcej niż pół godziny z przeszczepionym sercem pochodzenia zwierzęcego (świńskiego) [5, 69].

Opisane przez Smorąga i wsp. [55] modyfikacje genomu świni umożliwiające ksenotransplantacje to przede wszystkim wprowadzenie do genomów świń ludzkich genów regulujących system dopełniacza (czyli czynników CD46, CD55 oraz CD59), modyfikowanie białek komórkowych u dawcy (zwierzęcia) oraz wyłączenie syntezy cukru Gal. To ostatnie, według autorów, jest możliwe poprzez inaktywację genu syntetyzującego białko α -Gal (α -1,3-galaktozylotransferazy) lub modyfikację antygenów powierzchniowych. Ludzkie geny wprowadzone do transgenicznych świń są niezbędne do uniknięcia nadostrej odpowiedzi immunologicznej ludzkiego organizmu. Można to uzyskać poprzez mikroiniekcję DNA i metody alternatywne, takie jak transfekcja zmodyfikowanymi, świńskimi plemnikami, czyli uprzednim przygotowaniu plemników pozbawionych genu *α -Gal* i następnym zapłodnieniu komórki jajowej. W Polsce transgeniczne świny służą dotychczas głównie jako dawcy do prac nad biotechnologicznymi zastawkami sercowymi oraz do tworzenia opatrunków, tzn. skóry wykorzystywanej dla pacjentów z silnymi poparzeniami. Obecnie prowadzone są hodowle zarówno skóry, jak i tkanki chrzęstnej.

Z biotechnologią i bioinżynierią wiąże się również zwiększanie w populacji frekwencji alleli związanych z korzystnymi dla hodowcy cechami zwierząt gospodarskich poprzez odpowiedni dobór par do kojarzeń. Tego typu prace są prowadzone już od wieków w większości, jeśli nie we wszystkich populacjach zwierząt gospodarskich, zwłaszcza w krajach rozwiniętych. Wprowadzona w ostatnim czasie w wielu populacjach bydła mlecznego i niektórych populacjach kóz mlecznych, świń czy roślin, a nawet owadów selekcja genomowa, wykorzystująca najnowsze techniki z zakresu genetyki molekularnej, znacznie przyspiesza postęp hodowlany i utrwalanie korzystnych wariantów genów. Jednak opracowywane są nowe metody sztucznego zwiększania częstotliwości występowania takich alleli przy wykorzystaniu inżynierii genetycz-

nej. Dane allele byłyby powielane poza organizmem zwierzęcia, czyli „w szkle” (łac. *in vitro*), a następnie włączane w genom zwierzęcia, bądź zwiększano by lub eliminowano ekspresję poszczególnych genów w celu zwiększenia odporności na choroby i wydajności zwierząt utrzymywanych w gospodarstwach [41].

Hodowle komórkowe i tkankowe

Coraz większy sprzeciw społeczeństwa budzi wykorzystywanie zwierząt dla jakichkolwiek ludzkich korzyści. Stąd bioinżynieria proponuje również nowe rozwiązania opierające się o zdobytą dotychczas wiedzę. Najlepszą alternatywą dla+ badań prowadzonych na zwierzętach są hodowle tkankowe (inżynieria tkankowa). Już dziś wiele laboratoriów jest w stanie wytworzyć całą tkankę lub nawet narządy z pojedynczych komórek. Muszą być one jednak utrzymywane w odpowiednich warunkach wzrostu, w idealnie dobranym środowisku. Przy ich spełnieniu naukowcy będą w stanie wyprowadzić organy do przeszczepów (w przypadku skóry jako narządu i tkanki chrzęstnej już jest to możliwe) [10]. Dodatkową zaletą jest możliwość wykorzystania do hodowli własnych komórek pacjenta, dla którego dane tkanki czy organy mają być przeznaczone. W tym celu wykorzystywane są zdolności regeneracyjne somatycznych komórek macierzystych, pobieranych ze szpiku kostnego. Alternatywnie wykorzystuje się również indukowane, pluripotencjalne komórki (komórki różnicujące się) macierzyste pobierane ze skóry lub krwi, przeprogramowując je do stanu pierwotnego (embrionalnego). Każdy z rodzajów tych komórek wykorzystuje się następnie do różnicowania w dowolny typ komórek danej tkanki, bądź do diagnostyki chorób, w tym nowotworów [35].

Organizmy modyfikowane genetycznie

Opisane wcześniej metody czy techniki, przyczyniły się także do rozwoju produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego, o zmienionych i polepszonych właściwościach. Jednak tworzenie organizmów modyfikowanych genetycznie oraz wykorzystanie zwierząt do badań i doświadczeń laboratoryjnych to jedno z najbardziej kontrowersyjnych aspektów rozwoju bioinżynierii.

Początkowo próbowano wprowadzać na rynek konsumencki produkty GMO, w tym również zwierzęta modyfikowane genetycznie, z których produkty miały mieć lepszy skład od tych uzyskiwanych naturalnie, np. większą zawartość konkretnych białek w mięsie, tym samym mięso miało być „smaczniejsze” przez zwiększenie m.in. jego kruchości. Pierwsze GMO powstały w drugiej połowie XX w., będąc nieodłącznym elementem niektórych z gałęzi przemysłu jak rolnictwo, przemysł spożywczy, farmakologia oraz medycyna. Pierwszą zmodyfikowanym genetycznie organizmem była oporna na kanamycynę bakteria *E. coli* (1973 r.), pierwszą rośliną - tytoń (1983 r.), natomiast pierwszym zwierzęciem - mysz (1974 r.).

Organizmy modyfikuje się przy pomocy technik inżynierii genetycznej, w tym z wykorzystaniem klonowania. Do ich powstania wykorzystuje się ekstrakcję genu z jednego organizmu i wszczepianie go do innego. Mogą być to modyfikacje tylko w obrębie organizmu (jego genomu), bez wprowadzania do niego materiału innego, bądź wprowadzenie danych fragmentów, jak geny z organizmu obcego (organizm transgeniczny). Wykorzystanie organizmów modyfikowanych genetycznie regulują odpowiednie akty prawne wprowadzone w większości krajów, zwłaszcza krajów wysoko rozwiniętych, w tym w całej Unii Europejskiej. Na całym świecie w rolnictwie używane są odmiany zmodyfikowanych roślin, o zwiększonej odporności na herbicydy, takich jak kukurydza, soja i rzepak [45]. Ponadto w przypadku kukurydzy transgenicznej MON810 uzyskano odporność na omacnicę prosowiankę (*Ostrinia nubilalis*) poprzez wprowadzenie do rośliny białka CryA1(b) z bakterii *Bacillus thuringensis ssp. kurtsaki*, które jest toksyczne dla tego owada [11]. Różne gatunki roślin są wykorzystywane również do produkcji substancji czynnych, np. antygenów wirusa zapalenia wątroby typu B syntetyzowanych przez liście salaty lub tytoń czy marchew – do produkcji szczepionek na malarię, grypę, wściekliznę, czy żółtaczkę typu B [34, 45]. Wprowadzanie takich zmian może wiązać się jednak z pewnym ryzykiem zagrożenia dla zdrowia konsumentów, zwłaszcza w początkowych fazach uprawy takich roślin, związanych przede wszystkim ze wzrostem alergenicności, problemami immunologicznymi czy odpornością na antybiotyki [31], dlatego też jest wielu przeciwników modyfikowanych produktów.

Szybki postęp nauki w tej dziedzinie wiąże się ze zwiększoną krytyką społeczeństwa. Już od 2000 roku ponad 50 % ludności Polski była przeciwna produkcji transgenicznych zwierząt i roślin, pomimo że większość roślin jest przeznaczona na pasze dla zwierząt. W 2017 roku aż 70 % Polaków było przeciwnych tworzeniu i wykorzystaniu GMO. Największym poparciem cieszyła się natomiast produkcja GMO wykorzystywanych do produkcji leków (90 % w 2016 r.). W innych krajach europejskich sytuacja wyglądała podobnie. Obawy wynikają najczęściej z przeświadczenia, że takie przemiany doprowadzą do oporności patogenów na antybiotyki, wzrostu zachorowań na alergię, nowotwory czy zaburzeń hormonalnych, a co za tym idzie, zaburzeń płodności (fitoestrogeny soi). Istnieje również obawa powstania „super chwastu”, przedostania się zmodyfikowanego genomu do środowiska naturalnego (pyłek kwiatów), czy niszczenia pożytecznych owadów (wyginięcie niemal 90 % rodzin pszczelich w Kanadzie). Dlatego też wszelkie organizmy transgeniczne są weryfikowane już na etapie tworzenia w laboratorium [18, 45], a jak wspomniano, wykorzystanie GMO jest obwarowane szeregiem przepisów prawnych.

Jednym ze zwierząt zmodyfikowanych genetycznie, które zostało wprowadzone do sprzedaży jako produkt konsumencki dla ludzi jest *Salmo salar* (łosoś atlantycki) – AquaAdvantage (AquaBounty Technologies, Maynard, MA) zatwierdzony w 2015 roku

przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA; *Food and Drug Administration*). Modyfikacja polegała na zastąpieniu genu regulującego hormon wzrostu tego zwierzęcia genem pochodzącym od czawyczy (*Oncorhynchus tshawytscha*) z sekwencją promotorową od węgorzycy amerykańskiej (*Zoarces americanus*), co pozwoliło na przyspieszenie wzrostu i przyrostu masy w ciągu każdego roku *Salmo salar* około dwukrotnie [15, 44]. FDA zatwierdziło również do spożycia oraz potencjalnych zastosowań terapeutycznych świnię GalSafe [16]. Świnie te są wolne od cukru α -gal obecnego na powierzchni komórek zwykłych świń. Cukier ten powoduje u osób z zespołem α -gal (ang. AGS; *alpha-gal syndrome*) reakcje alergiczne na czerwone mięso, w którym jest on obecny (np. wołowinie, wieprzowinie czy jagnięcinie) [17]. Jednak produkty GMO pochodzenia zwierzęcego są do tej pory oficjalnie dopuszczone do konsumpcji w Ameryce i Kanadzie.

Obecnie coraz więcej osób staje się zwolennikami diety wyłączonej z jadłospisu mięso oraz inne produkty pochodzenia zwierzęcego. Głównym powodem jest niechęć ludzi do przyczyniania się do śmierci lub cierpienia zwierząt oraz negatywnego wpływu na środowisko m.in. poprzez zwiększanie śladu węglowego. Jednak wiele z takich osób konsumowało mięso i inne produkty zwierzęce w dzieciństwie i pomimo wycofania ich z diety poszukują produktów o podobnych walorach smakowych. W odpowiedzi na te potrzeby powstają liczne roślinne zamienniki mięsa (np. kotlety sojowe), mające przypominać w smaku produkty pochodzenia zwierzęcego oraz dostarczać podobnych składników odżywczych. W laboratoriach trwają natomiast prace nad uzyskaniem „sztucznego mięsa”, czyli mięsa, a dokładniej tkanki mięśniowej, która otrzymywana będzie z pojedynczych komórek tej tkanki (miocytów) lub z komórek macierzystych pobranych od zwierząt gospodarskich, w tym drobiu, a następnie namnożonych w warunkach *in vitro*, uzupełnione komórkami tłuszczowymi (adipocytami) oraz tkanką łączną (fibroblasty) i naczyniami krwionośnymi. Jest to jednak skomplikowany proces, a główne problemy są związane ze współpracą tych wszystkich układów. Adipocyty mają odwzorować smak mięsa, ale kolejnym problemem jest kolor. Mięśnie uzyskiwane *in vitro* są żółte ze względu na zahamowaną ekspresję mioglobiny w warunkach tlenowych. Wprowadzenie witamin również będzie niezbędnym procesem przy produkcji sztucznego mięsa [68].

Od kilkunastu lat trwają intensywne prace laboratoryjne nad uzyskaniem mięsa komórkowego i już kilka firm na świecie, w tym w Polsce, przygotowuje się do wprowadzenia takiego mięsa na rynek. „Burger *in vitro*” zadebiutował na konferencji w Londynie w 2013 roku. Mięso przygotowywane było przez kilka tygodni w laboratorium przez holenderski zespół Marka J. Posta [46] i skonsumowane, a produkcja 142 g została wyceniona na ok. 250 tys. euro [20]. Pierwszym krajem, który wydał oficjalną zgodę na sprzedaż mięsa komórkowego był Singapur – stało się to już w 2020 roku. Drugim krajem są Stany Zjednoczone. Produkty dwóch amerykańskich firm

otrzymały właśnie oficjalną zgodę na sprzedaż mięsa kurczaka hodowanego komórkowo w Stanach Zjednoczonych. Również w Polsce działa już firma, która pracuje nad rozwojem rolnictwa komórkowego [67]. Produkcja i wprowadzanie na rynek mięsa pochodzącego z hodowli komórkowych w Unii Europejskiej regulowane jest przez rozporządzenie UE 2015/2283 w sprawie nowej żywności [56]. Dotychczas technologia ta do wyprodukowania takiej samej ilości „mięsa” wymagała dłuższego czasu i była dużo bardziej kosztowna niż klasyczna jego produkcja, jednak wraz z postępowaniem prac koszt uległ już znacznej redukcji – z 250 tys. do kilkunastu USD [67].

Techniki *in vitro*

Technika zapłodnienia *in vitro* powstała zarówno dzięki pracom w zakresie inżynierii genetycznej, jak i dzięki rozwojowi innych dziedzin bioinżynierii, w tym hodowli komórkowej. Połączenie metod tych dziedzin, technik i sprzętu oraz odpowiedni skład i dobór pożywek dla komórek jajowych i zarodków, pozwoliły na doskonalenie zwierząt poprzez przekazywanie pożądaných cech i łączenie ich w celu uzyskiwania zwierząt najbardziej wydajnych w zakresie danej cechy. Rozwój technik kriokonserwacji oocytów, zarodków i nasienia pozwala zarówno na zachowanie materiału genetycznego cennych ras lub ginących gatunków, jak i na zachowanie płodności m.in. osobom narażonym na szkodliwe efekty uboczne radio- i chemioterapii [42]. Pozwoliło to również na zmianę podejścia do nauki wśród ludzi, gdyż zapłodnienie *in vitro* umożliwia wielu parom, które z jakiegoś powodu nie mogą mieć potomstwa, na doprowadzenie do powstania zygoty i wprowadzenie jej do organizmu kobiety, w którym dalej rozwija się ona naturalnie.

Pierwszym istotnym elementem zapłodnienia *in vitro* jest pobranie komórek jajowych i doprowadzenie do uzyskania przez nie pełnej dojrzałości jądrowej oraz cytoplazmatycznej (odblokowanie oocytu II rzędu, metafazy II mejozy) poza organizmem matki. Umożliwiają to odpowiednio dobrane składniki wzbogacające do pożywek opartych najczęściej na cielej surowicy płodowej (FCS – ang. *Fetal Calf Serum*), m.in. płyn pęcherzykowy (FF - ang. *Follicular Fluid*) oraz hormony gonadotropowe, w tym luteinizujący (LH), hormon folikulotropowy (FSH) czy czynniki wzrostu. Należy zaznaczyć, iż pożywki i metody dojrzwania oocytów zwierzęcych i ludzkich oraz hodowli zarodków *in vitro* podlegają ciągłym zmianom i ulepszeniom [13]. Zapłodnienie jest przeprowadzane w małej kropli odpowiednio przygotowanej pożywki, poprzez umieszczenie w niej dojrzałych oocytów oraz plemników [6]. Możliwości zapładniające nasienia sprawdza się przede wszystkim przy pomocy metody *swim-up*, określającej zdolność migracji plemników. Zdolność zapłodnienia zostaje w tej metodzie potwierdzona w momencie, w którym plemniki są zdolne podpłynąć w górne partie pożywki (czyli płyną w górę, ang. *swim up*) [57]. Do oczyszczenia nasienia i wyodrębnienia plemników zdolnych do zapłodnienia wykorzystuje się także, powszechnie stosowaną

i u ludzi, metodę wirowania w gradiencie gęstości Percollu (narzędzia do rozdzielania komórek w zależności od ich wielkości). Pozwala ona na oddzielenie od siebie frakcji najbardziej ruchliwych plemników od tej zawierającej gamety o obniżonej ruchliwości oraz zmienionej morfologii i innych komórek somatycznych [6]. Kolejnym istotnym elementem jest kapacytacja plemników za pomocą odpowiednich pożywek. Jest to jeden z najistotniejszych procesów, konieczny do osiągnięcia przez plemniki gotowości do penetracji komórki jajowej oraz komórek wzgórka i osłonki przejrzystej.

Zapłodnienie *in vitro* jest często wspomagane technikami mikromanipulacyjnymi polegającymi na bezpośrednim, mikrochirurgicznym wprowadzeniu plemnika do wnętrza komórki jajowej (ICSI – ang. *Intra Cytoplasmic Sperm Injection*). Przed przystąpieniem do ICSI, oocyt oczyszcza się z komórek wzgórka jajonośnego i wieńca promienistego (dekoronizacja) oocytów przy pomocy procesów enzymatycznych, stosując hialuronidazę i mechanicznie (przy pomocy pipety). Komórki jajowe w stadium metafazy II to jedyne oocyty poddawane mikromanipulacji. Oczyszczone komórki umieszcza się pojedynczo w mikrokroplach medium hodowlanego na szalce Petriego, obok kropli z wcześniej przygotowanym nasieniem. Całość zostaje przykryta warstwą oleju mineralnego. Wybrane plemniki o prawidłowej morfologii i ruchu unieruchamia się i następnie wprowadza do wnętrza pipety iniekcyjnej. Unieruchomiona pipetą przytrzymującą komórkę jajową jest ustawiana ciałkiem kierunkowym prostopadle do pipety podtrzymującej. Na koniec dochodzi do przerwania ciągłości osłonki przejrzystej przez pipetę iniekcyjną, potem błony komórkowej oocytu i wprowadza się pojedynczy, wyselekcjonowany plemnik do cytoplazmy komórki jajowej [6]. Technika ICSI pozwala na zapłodnienie zarówno z użyciem świeżego, jak i uprzednio zamrożonego nasienia.

Rozwój technik mikromanipulacyjnych umożliwił także opracowanie metod klonowania somatycznego, pozwalających na uzyskanie identycznych genetycznie kopii zwierząt. Pierwszym sklonowanym zwierzęciem był płaz – płatana szponiasta (*Xenopus laevis*) [25, 26], za co John Gurdon otrzymał w 2012 roku nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny. Niemal 40 lat później uzyskano pierwszego sklonowanego ssaka - owcę Dolly [8], a po niej także klony wielu innych gatunków ssaków, m.in. myszy, świni czy mały [39]. Najczęściej stosowaną techniką klonowania somatycznego jest przeniesienie jądra komórki somatycznej (SCNT – ang. *Somatic Cell Nuclear Transfer*). W tej technice komórkę jajową – biorcę – pozbawia się materiału genetycznego (przedjądra), a następnie mikrochirurgicznie (za pomocą szklanej mikropipety) wprowadza się na jej miejsce materiał genetyczny (komórkę somatyczną) dawcy. Klonowanie somatyczne jest metodą o niskiej wydajności (około 2 %), może być jednak stosowane w celu uzyskiwania identycznych genetycznie kopii osobników o cennych lub unikatowych cechach, na przykład ras czy gatunków zagrożonych [40],

zwierząt transgenicznych, a nawet osobników o szczególnie pożądanym cechach użytkowych [54].

Klonowanie ludzi w celach reprodukcyjnych nie jest stosowane i jest obecnie prawnie zabronione w 70 krajach. Klonowanie terapeutyczne, to znaczy mające na celu uzyskanie nie urodzonych osobników, ale komórek czy organów, jest przedmiotem debat. Zastosowanie tej techniki pozwoliłoby na przykład na uzyskanie tkanek do przeszczepu identycznych genetycznie z pacjentem, niwelując ryzyko odrzucenia przeszczepu, jednak koszt tak spersonalizowanej procedury byłby bardzo wysoki. W wielu krajach, w tym w Polsce, stosowanie klonowania terapeutycznego w przypadku ludzi jest także zabronione ze względów etycznych.

Zasady 3R i związane z nimi rozwiązania

Wiele technik *in vitro* jest już komercyjnie wykorzystywanych w laboratoriach. Tkanki oraz organoidy (miniaturowe modele organów otrzymane *in vitro*) [70] uzyskane w hodowlach *in vitro* można wykorzystywać również jako zamiennik dla zwierząt w badaniach laboratoryjnych, np. do testów toksykologicznych. Jest to jedna z zasad prowadzenia badań laboratoryjnych zawartych w tzw. zasadach 3R. Te zaś zawierają się w jednolitej platformie prawnej w postaci dyrektywy 2010/63 [14] ustanowionej przez Parlament Europejski we wszystkich krajach należących do Unii Europejskiej [51]. W Polsce zasady te wprowadzono ustawą o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych i edukacyjnych z dnia 27 maja 2015 roku [61]. Zasady 3R to skrót od trzech istotnych praw odnoszących się do słów “zastąpienie” (ang. *replacement*), “ograniczenie” (ang. *reduction*) oraz “udoskonalenie” (ang. *refinement*). Każde z nich kieruje się do konkretnych działań na rzecz prowadzenia badań laboratoryjnych w bardziej etyczny i akceptowalny przez społeczeństwo sposób.

“Zastąpienie” to zastosowanie metod pozwalających zastąpić zwierzęta w badaniach lub testach, w których są wykorzystywane. Coraz częściej daje to możliwość całkowitej eliminacji zwierząt z doświadczeń, przynajmniej na pierwszych etapach badań, jeśli nie wszystkich. Zastąpienie może się odbywać przez wykorzystanie hodowli tkankowych lub komórkowych, embrionów kręgowców nieobjętych ochroną prawną lub zwierząt bezkręgowych (np. muszka owocowa, robaki czy śluzowce) oraz, jeśli to możliwe, użycie modeli matematycznych lub komputerowych. Testowanie substancji drażniących lub składników leków oraz badania nad komórkami hematopoetycznymi prowadzi się aktualnie przy użyciu hodowli komórkowych [12]. Hodowle tkankowe wykorzystywane są w różnego rodzaju modelach narządów (np. “organów na chipach”, ang. *organ on chips*), m.in. w kardiologii i w badaniach nad patomechanizmem astmy, jak również w badaniach przerzutów nowotworów złośliwych. Natomiast za pomocą programów komputerowych można ustalić, jak dostosować testowany ligand (lek) do receptora (konkretnego rodzaju komórek w narządach lub występujących

na powierzchni komórek nowotworowych) i w ostatniej fazie badań sprawdzić to w badaniach na zwierzętach, ograniczając ich liczbę [51]. Odnosi się to do “ograniczenia”, czyli postępowania w celu zredukowania liczby zwierząt wykorzystywanych w badaniach z uzyskaniem porównywalnych wyników do tych, jakie zostałyby uzyskane przy ich wykorzystaniu. Inne metodystosowane do ograniczenia wykorzystania zwierząt w badaniach to przede wszystkim dzielenie się wynikami doświadczeń między zespołami badawczymi, jak również dokładne analizy statystyczne oraz ulepszanie projektów doświadczalnych przez wykorzystanie innych technik, np. obrazowania, pozwalających na długotrwałą obserwację wybranej populacji zwierząt i opieranie się na zdobytej do tej pory wiedzy naukowej. Ostatnia z trzech zasad 3R to “udoskonalenie” wiążące się z minimalizacją bólu, cierpienia, możliwych urazów oraz stresu, związanych z badaniami. Odnosi się więc ona do całkowitego polepszenia dobrostanu zwierząt, łącznie ze sposobem ich utrzymania przed doświadczeniem, w jego trakcie i po nim. W tym celu przystosowuje się zwierzęta już od urodzenia do pewnych procedur (jak ważenie czy pobieranie krwi), urozmaica środowisko, w którym są utrzymywane, różnego rodzaju elementami do zabawy czy kryjówkami oraz stosuje odpowiednie anestetyki i środki przeciwbólne [51].

Inżynieria tkankowa jest z pewnością przyszłością medycyny, nie tylko ze względów etycznych, ale również przez złożoność układów i funkcji narządów. Jednak nie należy zapominać, że organizmy, mimo podobieństw, różnią się od siebie i nie w każdym doświadczeniu można zastąpić model zwierzęcy hodowlami tkankowymi i komórkowymi. Niektóre doświadczenia wymagają wykorzystania zwierząt we wstępnej bądź późniejszej fazie eksperymentów. Jednak prawdopodobnie rozwój nauki zaowocuje z czasem całkowitą rezygnacją z ich wykorzystywania w eksperymentach naukowych.

Wraz z rozwojem nauki zaczęły pojawiać się pytania, wątpliwości i obawy przed czymś dotychczas nieznanym. W ostatnim czasie obawy te znacznie się nasiliły. Zmiany w sferze nauki budzą większe emocje niż w przeszłości (jak to było z tematyką transformacji genetycznej i klonowania), gdyż dotyczą istoty ludzkiego życia, ingerencji w mechanizmy kodowania i przekazywania informacji genetycznej oraz w pewien sposób naruszają też sposób życia, odżywiania i obyczajów, zostawiając niepewność w kontekście ich przyszłości. Zauważalny staje się aktualnie postępujące zwątpienie w postęp oraz brak zaufania do nauki. Mając lepszy dostęp do nowych informacji poprzez różnego rodzaju szeroko dostępne media, ludzie coraz częściej napotykać na intensywnie rozpowszechniane mity i uproszczenia. Wielokrotnie też padają fałszywe, przerysowane stwierdzenia, które nasilają dyskusję lub dane informacje są przekazywane w nieodpowiedni sposób, wprowadzając przeciętnego odbiorcę w błąd i narażając naukę na pochojne, nieprzychylnie osądy [2].

Podsumowanie

Równoległe do rozwoju technologii społeczeństwo powinno być zachęcane do zapoznania się z samą ideą biotechnologii i bioinżynierii, gdyż nowe technologie otwierają nowe perspektywy, nie tylko poprawy jakości ludzkiego życia, ale wręcz ratowania go. Także rozwój tych nauk to równoczesny rozwój wszelakich płaszczyzn życia codziennego, zaczynając od etycznego traktowania zwierząt i ich wykorzystywania do badań, a kończąc na najważniejszej i bezpośrednio dotykającej ludzi, czyli medycynie i wszystkich jej dziedzinach.

Wykorzystywanie zwierząt do doświadczeń jest kontrowersyjne i wywołuje wiele dyskusji i sporów. Dzięki temu rozbudowano przepisy prawa, tworząc liczne ustawy (np. wspomniana wyżej dyrektywa 2010/63), mające gwarantować dobrostan zwierząt wykorzystywanych w badaniach naukowych. Przeprowadzanie niektórych badań na zwierzętach jest jednak niezbędne w celu uniknięcia prowadzenia analogicznych badań na ludziach. Uwaga społeczeństwa skupia się głównie na niehumanitarnym przeprowadzaniu procedur, które mimo przebiegu zgodnego z prawem, wiążą się z bólem, cierpieniem, narażeniem zwierząt na strach lub trwałe uszczerbek na zdrowiu oraz nierzadko śmierć. Aktualnie wprowadza się jednak niezbędne środki mające na celu przeciwdziałanie dolegliwościom fizycznym, jak również negatywnym stanom psychicznym i emocjonalnym (cierpienie i stres) (np. wspomniana wyżej zasada 3R). Co więcej, przepisy są regularnie aktualizowane w celu ograniczenia krzywdy wobec zwierząt. Doświadczenia muszą być szczegółowo opisywane i akceptowane przez lokalne komisje etyczne. W świetle tych ustaw każda z procedur jest obowiązkowo poddawana wczesnemu i humanitarnemu zakończeniu [22]. Zwierzęta są więc, wbrew temu co niekiedy kreują media, traktowane w sposób humanitarny, zarówno przed doświadczeniami, jak i w trakcie ich trwania. Mają one swoich opiekunów, którzy codziennie bacznie doglądają ich dobrostanu. Procedury są przeprowadzane w taki sposób, aby uzyskiwać jak najbardziej miarodajne wyniki. Unika się powielania takich samych badań, dzięki udostępnianiu ich wyników w środowisku naukowym oraz ogranicza liczbę zwierząt do minimum.

Nauka, poprzez ciągły rozwój, tworząc coraz to nowsze techniki i metody, prowadzi do rozwoju różnych nowych nauk, które powstają na podstawie już istniejących lub w wyniku ich podziału na mniejsze dziedziny nauki. Bioinżynieria, będąca odnogą biotechnologii, ma duży potencjał, który widoczny jest przez jej rozwój w postaci powstawania i polepszania metod laboratoryjnych, mających zastosowanie w różnych sferach życia. W zaprezentowanym artykule zostały omówione pokrótce najważniejsze i najczęściej wykorzystywane spośród nich. Należy zauważyć, że laboratoria również są ukierunkowane na przeprowadzanie w nich konkretnych badań, stąd trudno wymienić i opisać wszystkie istotne techniki, które są aktualnie lub będą w przyszłości prak-

tykowane. Nauka ma przed sobą jeszcze wiele do zaprezentowania – miejmy nadzieję, że wkrótce się o tym przekonamy.

Literatura

- [1] Animal Dissection – Top 3 Pros and Cons. [online]. Britannica. Dostęp w Internecie [25.08.2022]: <https://www.procon.org/headlines/top-3-pros-and-cons-of-animal-dissection/>.
- [2] Anioł A.: Kontrowersje wokół transgenicznych odmian roślin uprawnych: przezorność czy technofobia? *Postępy Nauk Rolniczych*, 2008, 3, 3-16.
- [3] Bardadin K.: *Historia Patomorfologii*, Polskie Towarzystwo Patologów, 1995, pp. 8-11.
- [4] Blackburn C., Waite A., Couturier A.: New tools for disease research: reprogrammed cells in disease modelling. *EuroStemCell*, 2016.
- [5] Brzozowska E.: Był niewierzący, ale nazywali go Święty – prof. Zbigniew Religa naprawił tysiące polskich serc, Dostęp w Internecie [27.03.2022]: <https://www.medonet.pl/zdrowie,100-lat-polsko--zbigniew-religa-przeprowadzil-pierwszy-w-polsce-udany-przeszczep-serca-i-rownoczesny-przeszczep-serca-i-pluca--naprawil-tysiace-serc,artykul,1726173.html>.
- [6] Bukowska D., Kempisty B., Zawierucha P., Piotrowska H., Antosik P., Jackowska M., Jaśkowski J.M., Bryja A., Nowicki M.: Wybrane aspekty związane z zapłodnieniem *in vitro* u świń. *Med. Veter.*, 2012, 68(12), 717-721.
- [7] Cappella M., Ciotti C., Cohen-Tannoudji M., Biferi M.G.: Gene Therapy for ALS-A Perspective. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20(18), #4388.
- [8] Campbell K.H., McWhir J., Ritchie W.A., Wilmut I.: Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 1996, 380(6569), 64–6.
- [9] Chien S., Fung Y.C., Gough D.A., Intaglietta M., Kassab G., Paison B., Sah R.L., Schmid-Schönbein G., Sung L.A., Tong P., Yen M.R.T., Huang W.: *Introduction to bioengineering*, World Scientific, 2001, 2, V.
- [10] Crawford M.: *Top 10 Bioengineering Trends for 2020*, The American Society of Mechanical Engineers, 2020.
- [11] Czaban A.: *Kukurydza transgeniczna MON 810*, praca inżynierska. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, 2010.
- [12] Doke S.K., Dhawale S.C.: Alternatives to animal testing. *A review*, *Saudi. Pharm. J.*, 2015, 23, 223-229.
- [13] Duszewska A.M., Rapała Ł., Trzeciak P., Dąbrowski S., Piliszek A.: Obtaining farm animal embryos *in vitro*. *J. Anim. Feed Sci.*, 2012, 21.2: 217-233.
- [14] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych. *Dz. Urz. UE L 276*, s. 33-79 z 20.10.2010.
- [15] Eriksson S., Jonas E., Rydhmer L., Röcklinsberg H.: Invited review: Breeding and ethical perspectives on genetically modified and genome edited cattle, *J. Dairy Sci.*, 2018, 101, 1–17.
- [16] FDA Approves First-of-its-Kind Intentional Genomic Alteration in Line of Domestic Pigs for Both Human Food, Potential Therapeutic Uses [online]. Dostęp w Internecie [14.12.2020]: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-of-its-kind-intentional-genomic-alteration-line-domestic-pigs-both-human-food#:~:text=The%20FDA%20determined%20that%20food%20from%20GalSafe%20pigs,alpha-gal%20sugar%20across%20multiple%20generations%20of%20GalSafe%20pigs>.

- [17] FDA. GMO Crops, Animal Food, and Beyond [online]. Dostęp w Internecie [08.03.2022]: <https://www.fda.gov/food/agricultural-biotechnology/gmo-crops-animal-food-and-beyond>.
- [18] Federowicz S., Wiśniewski J., Sosnowska M., Jabłoński S.: Bioróżnorodność i jej ochrona; GMO a ochrona środowiska, IIIE, 2020.
- [19] Filimanow K., Wawrzyniak M., Maleszewski M.: Injection of higher DNA concentration into pronucleus as putative troubleshooting for generating transgenic mice. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2021, 39(3), 225-235.
- [20] Fountain H.: Building a \$325,00 Burger. *The New York Times*. Dostęp w Internecie [12.05.2013]: <https://www.nytimes.com/2013/05/14/science/engineering-the-325000-in-vitro-burger.html>.
- [21] Gabryelska M. M., Barciszewski J.: Świat podwójnej helisy–„Nie uszło naszej uwadze”. *Postępy Biochemii*, 2013, 59.
- [22] Gądzik Z.: Etyczne aspekty wykorzystywania zwierząt w procedurach doświadczalnych. *Studia Ecologiae et Bioethicae*, 2021, 19, 1, 17-30.
- [23] Gordon J.W., Scangos G. A., Plotkin D.J., Barbosa J.A., Ruddle F.H.: Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1980, 77(12), 7380-7384.
- [24] Gross T.: 'Frankenstein's Cat': Bioengineering The Animals Of The Future. Dostęp w Internecie [11.03.2013]: <https://www.npr.org/2013/03/11/174060869/frankensteins-cat-bioengineering-the-animals-of-the-future>.
- [25] Gurdon J.B., Elsdale T. R., Fischberg M.: Sexually Mature Individuals of *Xenopus laevis* from the Transplantation of Single Somatic Nuclei. *Nature*, 1958, 182, 64-65.
- [26] Gurdon J.B.: The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1962, 622-40.
- [27] Joachimiak A.: Inżynieria genetyczna roślin, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, 1988, 1-2, 9.
- [28] Jura J.: Transgeniczne zwierzęta hodowlane - efektywność transgenezy przy zastosowaniu techniki mikroiniekcji. *Biotechnologia*, 1995, 3(30), 95.
- [29] Karp G.: *Cell and Molecular Biology: concepts and Experiments*. 3rd ed., Wiley, 2002, 757.
- [30] Klug W. S., Cummings M. R.: *Concepts of Genetics*. 7th ed. New Jersey, Prentice Hall, 2002, 800.
- [31] Korbutowicz T.: Żywność genetycznie modyfikowana na świecie – zagrożenia czy korzyści, Uniwersytet Wrocławski, 2019, s. 152.
- [32] Kośmider A., Czarczyk K.: Witamina B12 – budowa, biosynteza, funkcje i metody oznaczania, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 5 (72), 17-32.
- [33] Looi Y.F., Baker M.L., Townson T., Richard M., Novak B., Doran T.J., Short K. R.: Creating Disease Resistant Chickens: A Viable Solution to Avian Influenza?, *Viruses*, 2018, 10, #561.
- [34] Maciołek H., Stajszczyk M.: Medyczne i prozdrowotne wykorzystanie żywności modyfikowanej genetycznie (GMO); Aspekty ekonomiczne, zdrowotne i fitosanitarne żywności modyfikowanej genetycznie, *Naukowe Wydawnictwo Piotrkowskie*, 2004, s. 121.
- [35] Madl C.M., Heilshorn S.C., Blau H.M.: Bioengineering strategies to accelerate stem cell therapeutics. *Nature*, 2018, 557, 335-342.
- [36] McGovern P., Voigt M., Glusker D., Exner L.: Neolithic resinated wine. *Nature*, 1996, 381, 480-481.
- [37] McGovern P.E., Zhang J., Tang J., Zhang Z., Hall G. R., Moreau R.A., Nunez A. M., Butrym E.D., Richards M.P., Wang C. S., Cheng G., Zhao Z., Wang C. C.: Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 17593-17598.
- [38] Miron: Kujawy kolebką wyrobu sera, Słowianie - Wiara Przyrodzenia. Dostęp w Internecie [23.03.2015]: <https://wiaraprzyrodzona.wordpress.com/2015/03/23/kujawy-kolebka-sera/>.

- [39] Modliński J.A., Karasiewicz J.: Klonowanie somatyczne ssaków. *Medycyna Wieku Rozwojowego V*, 2001, Suplement I do nr 1, 9-25.
- [40] Modliński J., Greda P., Papis K., Stachowiak E., Smorąg Z., Słomski R., Krzywiński A., Ryba M., Karasiewicz J.: Wykorzystanie klonowania somatycznego w ochronie zagrożonych ras i gatunków zwierząt. *Prace i Materiały Zootechniczne*, 2008, 66, 151-155.
- [41] Montaldo H.H.: Genetic engineering applications in animal breeding. *Electr. J. Biotechnol.*, 2006, 9(2), 157-170.
- [42] Nazari H., Afzali A., Mirshokraei P.: Effect of different oocyte retrieval and culture methods on *in vitro* maturation of bovine oocytes derived from vitrified ovarian tissue slices. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2023, 41,1, 63-77.
- [43] Nerem R.: *The Emergence of Bioengineering. The Bridge*, 1997, 27, 4.
- [44] Nine Things You Need To Know About GMO Salmon. [online]. *GMO answers*. Dostęp w Internecie [20.11.2023]: <https://gmoanswers.com/nine-9-things-you-need-know-about-gmo-salmon>.
- [45] Nowakowska J.A., Berezowska D., Szulińska A.: Postawa społeczeństwa wobec organizmów modyfikowanych genetycznie (GMO) w Polsce – na przykładzie wybranych grup osób, *Studia Ecologiae et Bioethicae*, 2021, 19, 1, 103-114.
- [46] Post M.J.: Cultured beef: medical technology to produce food. *J. Sci Food Agr.*, 2013.
- [47] Denner, Joachim. "First transplantation of a pig heart from a multiple gene-modified donor, porcine cytomegalovirus/roseolovirus, and antiviral drugs." *Xenotransplantation* 2023, 30. #12800
- [48] Redman M., King A., Watson C., King D.: What is CRISPR/Cas9?, *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 2016, 101:213-215.
- [49] Rubel, W.: *Bread: A global history*. Reaktion Books, 2011.
- [50] Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R.: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1977, 74(12), 5463-5467.
- [51] Schollenberger A.: Zasada 3R w ochronie zwierząt wykorzystywanych do badań naukowych. *Życie Weterynaryjne*, 2017, 92(6), 424-426.
- [52] Sicard, D., Legras, J. L.: Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensustrictus* complex. *Comptes Rendus Biologies*, 2011, 334(3), 229-236.
- [53] Sieja B.: Przeszczep zwierzęcych narządów to żadna nowość. Życie z nimi to jednak wyzwanie dla nauki. Dostęp w Internecie [17.01.2022]: <https://www.komputerswiat.pl/artykuly/redakcyjnej/przeszczep-zwierzecznych-narzadow-to-zadna-nowosc-zycie-z-nimi-to-jednak-wyzwanie-dla/2qq1cs7>.
- [54] Skrzyszowska M., Samiec M.: Możliwości wykorzystania technik klonowania we wspomaganym rozrodzie bydła, technologii żywności, przemyśle biofarmaceutycznym, biomedycynie oraz restytucji ginących lub wymarłych ras i gatunków zwierząt. *Wiadomości Zootechniczne*, 2019, LVII, 4, 78-92.
- [55] Smorąg Z., Słomski R., Jura J., Lipiński D., Skrzyszowska M.: Transgeniczne świny jako dawcy tkanek i narządów do transplantacji u ludzi. *Przegląd Hodowlany*, 2011, 11, 1-4.
- [56] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 2015/2283 z dnia 25 listopada 2015 r. w sprawie nowej żywności, zmieniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz rozporządzenie Komisji (WE) nr 1852/2001.
- [57] Stasiak K., Łakota P., Stadnicka K.: Ocena zdolności zapładniającej nasienia buhajów w oparciu o analizę *in vivo* i *in vitro*. *Med. Weter.*, 2017, 73 (6), 357-361.
- [58] Sun L., Nasrullah, Ke F., Nie Z., Wang P., Xu J.: Citrus Genetic Engineering for Disease Resistance: Past, Present and Future. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20, #5256.


- [59] Szczurek P., Pieszka M.: Dlaczego świnie są tak cenne dla badań biomedycznych? Klaster LifeScience Kraków, 2019.
- [60] Tyczewska A., Bąkowska-Żywicka K.: Zwierzęta jako bioreaktory - przyszłość przemysłu farmaceutycznego? *Biotechnologia*, 2008, 3(82), 64-70.
- [61] Ustawa z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych. *Dz. U.* 2015 poz. 266.
- [62] Wall R. J.: Biotechnology for the production of modified and innovative animal products: transgenic livestock bioreactors. *Livestock Production Science*, 1999, 59, 2-3, 243-255.
- [63] Watson J. D., Crick F. H.: Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 1953, 30, 171(4361), 964-967.
- [64] Watson J.D., Crick F.H.: The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, 1953, 18, 123-131.
- [65] Wolko L., Słomski R.: Biblioteki DNA - droga do poznania organizacji genomów. *Biotechnologia*, 2003, 3 (62), 159-179.
- [66] Wroniewski S.: Rzodkiewnik pospolity – jednoroczna roślina z rodziny kapustowatych, Dostęp w Internecie [10.09.2022]: <https://swiatrolnika.info/informacje/rzodkiewnik-pospolity-jednoroczna-roslina-z-rodziny-kapustowatych.html>.
- [67] Wysoczańska A.: Produkcja mięsa komórkowego coraz tańsza. Dostęp w Internecie [25.09.2023]: <https://naukawpolsce.pl/aktualnosci/news%2C98555%2Cprodukcja-miesia-komorkowego-coraz-tansza.html>.
- [68] Zabielski R., Zarzyńska J.: Wyzwania związane z produkcją „sztucznego mięsa”. *Życie Weterynaryjne*, 2020, 95(2), 74-80.
- [69] Zbigniew Religa. [online]. PAP. Dostęp w Internecie [02.06.2020]: <https://dzieje.pl/postacie/zbigniew-religa>.
- [70] Zhao Z., Chen X., Dowbaj A.M., Sljukic A., Bratlie K., Lin L., Shan Fong E. L., Balachander G. M., Chen Z., Soragni A., Huch M., Zeng Y. A., Wang Q., Yu H.: Organoids. *Nat Rev Methods Primers*, 2022, 2, 94.
- [71] Zmarł sześć tygodni po przeszczepie serca świni. "Wiedział, że to jego ostatnia szansa, aby zrobić coś dla innych". [online]. TVN24. Dostęp w Internecie [03.11.2023]: <https://tvn24.pl/swiat/usa-przeszczep-serca-swini-pacjent-zmarl-po-szesciu-tygodniach-od-operacji-7421432>.

DEVELOPMENT OF RESEARCH IN THE FIELD OF BIOENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY

S u m m a r y

Background. Science has been developing since time immemorial. As a result of curiosity, observation or the desire to improve the standard of living, various techniques and methods used in every field of science have been created over the centuries, and are still being developed nowadays. This made it possible to develop biotechnology, and subsequently, bioengineering. Changes in industry start with laboratory works. The most important and most frequent methods and techniques used in laboratories, the history of their creation, their current applications and possible use in the future were discussed in the article. These methods and techniques concern various areas of life and involve interference in the lives of animals, such as crossbreeding, genetic transformations or manipulations carried out on material obtained from them.

Results and conclusions. Animal research makes it possible to improve the quality of human life, especially for patients. However, it should be remembered that animals are also sentient beings and cannot be overexploited. They must be provided with appropriate living conditions, ensuring animal welfare. The development and implementation of new legal regulations and the 3R principles, as well as the development of state-of-the-art cell and tissue culture technologies, allow for limiting the use of invasive procedures in animal research. It is impossible to list and describe all important methods and techniques that are currently, or will be, practiced and developed in the future. Science still has a lot to discover, develop and offer for practice.

Keywords: biotechnology, in vitro, bioengineering, GMO, genetic modifications 

MAGDALENA KARWACKA, AGNIESZKA CIURZYŃSKA, MONIKA
JANOWICZ, SABINA GALUS

ALGI MORSKIE – NIEKONWENCJONALNY SKŁADNIK ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Wprowadzenie. W ostatnich latach zauważalne jest wzrastające zainteresowanie substancjami pozytywnymi z alg morskich, takimi jak błonnik pokarmowy, hydrokoloidy i substancje bioaktywne. Wiąże się to z rosnącą świadomością wpływu odżywiania na zdrowie, co prowadzi do poszukiwań składników żywności mogących korzystnie wpływać na organizm.

Wyniki i wnioski. Algi morskie, występujące naturalnie w czterech grupach zróżnicowanych pod względem dominującego barwnika, są bogatym źródłem białek, witamin, minerałów i niezbędnych kwasów tłuszczowych, oferując wiele możliwości zastosowania jako nowe źródło żywności oraz dodatki funkcjonalne. Najczęściej algi są wykorzystywane jako surowiec do produkcji hydrokoloidów, w tym alginianu, agaru i karagenu oraz barwników, które stanowią alternatywę dla dodatków syntetycznych. Regulacje Unii Europejskiej dotyczące wprowadzania produktów spożywczych z algami morskimi są określone w trzech głównych dokumentach prawnych. Produkty zawierające algi morskie podlegają takim samym regulacjom prawnym co inne produkty spożywcze, a ich wprowadzenie na rynek wymaga przeprowadzenia procesu autoryzacji lub notyfikacji oraz udowodnienia bezpieczeństwa spożycia. Opublikowane dotychczas badania sugerują, że same algi bądź wyekstrahowane z nich składniki mogą być z powodzeniem stosowane jako dodatki kształtujące cechy fizykochemiczne i sensoryczne szerokiej gamy produktów mięsnych, mlecznych, piekarsko-ciastkarskich oraz owocowo-warzywnych. Wprowadzenie alg do codziennej diety może wspierać funkcjonowanie organizmu oraz leczenie różnych problemów zdrowotnych. Dzięki przedstawionym właściwościom, perspektywa wykorzystania alg w przemyśle spożywczym wydaje się obiecująca, wymagając jednocześnie dalszych badań i innowacji.

Słowa kluczowe: algi morskie, alginian, karagen, spirulina, żywność

Wprowadzenie

W ostatnich latach można zaobserwować rosnące zainteresowanie substancjami pozytywnymi z alg morskich, między innymi błonnikiem pokarmowym, hydrokoloi-

Mgr inż. M. Karwacka ORCID: 0000-0002-5511-3251; dr hab. inż. prof. SGGW A. Ciurzyńska ORCID: 0000-0001-7263-0851; dr hab. inż. prof. SGGW M. Janowicz ORCID: 0000-0002-3790-3479; dr hab. inż. prof. SGGW S. Galus ORCID: 0000-0002-2352-5307, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa. Kontakt: email: magdalena_karwacka@sggw.edu.pl

dami i substancjami bioaktywnymi. Rosnąca świadomość związku pomiędzy sposobem odżywiania a zdrowiem prowadzi do poszukiwania nowych źródeł składników żywności, które mogą mieć dodatkowy, poza odżywczym, pozytywny wpływ na zdrowie i organizm ludzki. Możliwość wpływu na zdrowie i jakość życia dzięki zastosowaniu niektórych substancji występujących naturalnie w algach morskich wywołuje duże zainteresowanie zarówno ze strony konsumentów, jak i naukowców [24].

Na chwilę obecną nie poznano tak dobrze właściwości odżywczych alg morskich jak roślin lądowych. Wiadomo już, że stanowią bogate źródło bardzo dobrej jakości białek, dużych ilości witamin i minerałów, a także niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i błonnika pokarmowego. Algi morskie oferują wiele możliwości wykorzystania ich jako nowego źródła żywności oraz dodatku funkcjonalnego do istniejących już produktów spożywczych (Ryc. 1). Takie produkty będą lepiej odpowiadały na zmieniające się potrzeby i wymagania konsumentów [40].

Na przestrzeni ostatnich lat organizmy te i substancje z nich otrzymywane wykorzystywane są w przemyśle spożywczym na coraz szerszą skalę. Dotyczy to zwłaszcza hydrokoloidów i barwników. Na rynku pojawia się coraz więcej produktów zawierających algi morskie, przeznaczonych między innymi dla wegan i wegetarian.



Ryc. 1. Możliwości i kierunki wykorzystania alg jako składników nowych produktów spożywczych [opracowanie własne]

Fig. 1. Application possibilities and directions for algae as ingredients of new food products [own work]

Algi morskie są jedno- lub wielokomórkowymi autotroficznymi organizmami zamieszkującymi środowiska słono- i słodkowodne. Są organizmami plechowymi. Stanowią jeden z mniej poznanych i wykorzystywanych rezerwuarów żywności, a są bogate w składniki odżywcze. To doskonała baza surowcowa do produkcji żywności oraz otrzymywania wielu bioaktywnych substancji np. polifenoli.

Rodzaje alg morskich

Algi słonowodne należą do czterech gromad, wyróżnianych ze względu na dominujący barwnik: niebieskie (gromada *Cyanophyta*, około 1500 gatunków), czerwone (gromada *Rhodophyta*, około 6000 gatunków), brązowe (gromada *Ochrophyta*, klasa *Phaeophyceae*, około 1750 gatunków) oraz zielone (gromada *Chlorophyta*, klasy *Bryopsidophyceae*, *Chlorophyceae*, *Dasycladophyceae*, *Prasinophyceae* i *Ulvophyceae*, około 1200 gatunków). Pod względem rozmiaru algi morskie dzieli się na mikroalgi (*Cyanophyta*) oraz makroalgi (*Rhodophyta*, *Ochrophyta*, *Chlorophyta*) [27, 36].

Czerwone algi morskie są bogatym źródłem składników bioaktywnych, przez co wykorzystuje się je jako żywność oraz źródło dwóch hydrokoloidów – agaru oraz karagenu. Czerwony barwnik obecny w tych organizmach to w większości czerwona fikobylina, która dominuje nad zielonym pigmentem chlorofilem. Algi morskie *Gelidium* sp., *Gracilaria* sp., *Pterocladis* sp. są używane do produkcji agaru. *Euchema* sp. wykorzystywana jest do produkcji karagenu. Jednym z rodzajów alg stosowanych w największym stopniu jako żywność jest *Porphyra* sp., potocznie nazywana nori i wykorzystywana do produkcji sushi [18, 45].

Brązowe algi morskie są wykorzystywane jako żywność oraz surowiec do otrzymywania hydrokoloidów, w tym alginianu. Wodorosty brązowe stosowane jako źródło alginianu występują w wielu częściach świata. Ze względu na znacznie odmienną budowę roślin, alginiany wyekstrahowane z tych wodorostów różnią się właściwościami żelującymi, głównie ze względu na zróżnicowanie składu chemicznego alginianu, który pod względem chemicznym jest kopolimerem kwasu guluronowego i kwasu mannuronowego [42, 44]. Alginiany mające zdolność do tworzenia żeli o dużej wytrzymałości, charakteryzują się wysoką zawartością kwasu guluronowego, podczas gdy niska wytrzymałość żelu wynika z dużej zawartości kwasu mannuronowego [42]. Spożywanymi gatunkami brązowych alg morskich są: *Laminaria* sp. „kombu”, *Undaria* sp. „wakame” oraz *Hizikia* sp. „hiziki”, *Saragassum* sp. Do lat 50. XX wieku możliwe było tylko zbieranie tych dziko rosnących gatunków, jednak obecnie prowadzona jest ich sztuczna hodowla, która aktualnie dominuje. Algi są spożywane na surowo, ugotowane lub suszone z dodatkiem zielonej fasolki, a także jako zupy, sałatki, desery – galaretki lub z dodatkiem kruszonego lodu. Algi brązowe zawierają siarczanowane polisacharydy (alginiany, fukoidany i laminaryny), białka, minerały, witaminy, błonnik pokarmowy, kwasy tłuszczowe, pigmenty i związki bioaktywne, które mogą pozytyw-

nie przyczynić się do projektowania wysoko odżywczych produktów spożywczych, a także produktów użytkowych w nowej formule poprzez reformulację składników z wykorzystaniem morskich wodorostów jako komponentów pozwalających na tworzenie produktów o zaprojektowanych, powtarzalnych właściwościach prozdrowotnych [27, 39, 42, 52].

Zielone algi morskie zawdzięczają swoją nazwę barwnikowi – chlorofilowi. Ze względu na zdolność do fotosyntezy wymagają dostępu do światła, a więc rosną na relatywnie małych głębokościach. Spożywane gatunki to: *Ulva* sp., *Enteromorpha* sp., *Monostroma* sp., *Caulerpa* sp., *Codium* sp. Algi te spożywane są w formie surowej, suszonej lub gotowanej [27].

Chlorella vulgaris, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina* oraz *Arthrospira* sp. są najczęściej stosowanymi mikroalgami w przemyśle spożywczym oraz farmaceutycznym. Używane są do produkcji suplementów diety oraz produktów spożywczych. Na Dalekim Wschodzie *Chlorella vulgaris* była stosowana od wieków jako lek oraz tradycyjne źródło żywności i posiada status GRAS (ang. *Generally Recognized as Safe*). Obecnie jest szeroko stosowana w suplementach diety na całym świecie. *Chlorella* jest uznawana za źródło wielu składników odżywczych, np. karotenoidów, witamin oraz minerałów. Jedną z najważniejszych substancji, którą zawiera *Chlorella*, jest β -1,3-glukan, uznawany za „zmiatacz” wolnych rodników. Spirulina (*Arthrospira* sp.) jest mikroalgą stosowaną w suplementach diety, między innymi ze względu na wysoką zawartość białka oraz duże ilości kwasu γ -linolenowego. Jest również naturalnym źródłem fikocyjaniny, niebieskiego barwnika stosowanego jako naturalny barwnik żywności oraz kosmetyków. Potencjalne korzyści zdrowotne spiruliny wynikają głównie z jej składu chemicznego, który obejmuje białka, węglowodany, niezbędne aminokwasy, składniki mineralne (zwłaszcza żelazo), niezbędne kwasy tłuszczowe, witaminy i pigmenty. Pod tym względem trzy główne bioaktywne składniki spiruliny: białko fikocyjanina, siarczanowane polisacharydy i kwas γ -linolenowy, wydają się odgrywać znaczącą rolę w poprawie funkcji organizmu ludzkiego, jednocześnie badania naukowe [43] potwierdzają jej immunomodulacyjne i przeciwwirusowe działanie w suplementacji [16, 54, 60, 63]. W związku z powyższym spirulina jest powszechnie sprzedawana w postaci proszku lub tabletek i często reklamowana jako „super żywność”, co również wiąże się z kilkoma potencjalnymi korzyściami zdrowotnymi, w tym poprawą funkcji odpornościowych i łagodzeniem stanów zapalnych organizmu ludzkiego [4, 15].

W badaniach nad możliwością zastosowania wodorostów coraz więcej uwagi poświęca się dwóm gatunkom mikroalg – *Isochrysis galbana* i *Diacronema vlkianum* z powodu ich zdolności do wytwarzania długich wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LC-PUFA), głównie kwasu eikozapentaenowego (EPA) oraz dokozaheksaenowego (DHA). Te dwa gatunki mogą w przyszłości stać się cennym źródłem kwasów LC-PUFA, jako alternatywa dla olejów rybich [8, 37-38].

Prawo a algi morskie jako składniki żywności

Algi morskie oraz substancje z nich otrzymywane podlegają regulacjom prawnym ustanowionym przez Unię Europejską. Trzy główne dokumenty prawne dotyczące wprowadzenia i obrotu produktami spożywczymi z dodatkiem lub bez dodatku alg morskich to: Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. bezpieczeństwa żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności, Rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności, Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności [46, 47, 48].

Rozporządzenie 178/2002 określa definicje, prawa oraz obowiązki, które obowiązują na każdym etapie produkcji i dystrybucji żywności i pasz. Na mocy tego Rozporządzenia powołany został Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (ang. EFSA – *European Food Safety Authority*). Jeśli dany produkt lub składnik żywności był obecny w znaczącym stopniu na rynku krajów członkowskich przed dniem 15 maja 1997 r., to podlega tylko temu Rozporządzeniu. Jeśli ten warunek nie został spełniony, produkt kwalifikowany jest jako nowa żywność lub nowy składnik żywności i dotyczy go także Rozporządzenie nr 258/97. Produkty spożywcze zawierające algi morskie będące na rynku krajów członkowskich przed dniem 15 maja 1997 r. podlegają takim samym regulacjom prawnym jak reszta produktów spożywczych [16, 46, 47, 48].

Za nową żywność lub nowy składnik żywności uznaje się produkty zawierające w swoim składzie „żywność i składniki żywności składające się z lub wyekstrahowane z drobnoustrojów, grzybów lub alg morskich”. Aby możliwe było wprowadzenie takich produktów spożywczych na rynek należy przeprowadzić proces autoryzacji, notyfikacji lub udowodnić długotrwałe stosowanie takiego produktu. Celem tych procedur jest ocena i wydanie opinii dotyczącej bezpieczeństwa spożycia tego składnika lub produktu spożywczego. Jeśli produkt spożywczy spełni warunki wymienione w Rozporządzeniu (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności, może zostać dopuszczony do obrotu na rynku [16, 46, 47, 48].

Przykładami produktów i substancji, które obejmuje Rozporządzenie (WE) nr 258/97, są kwasy EPA i DHA pozyskiwane z alg morskich. Kwasy te zostały dopiero niedawno dopuszczone do wprowadzenia na rynek, pomimo że były w znaczącym stopniu spożywane przed dniem 15 maja 1997 r. Problematyczne w tym przypadku było pochodzenie kwasów tłuszczowych. Podobnym przykładem są barwniki otrzymywane ze spiruliny. Spirulina była stosunkowo często spożywana przed rokiem 1997,

jednakże niebieski barwnik z tej algi morskiej nie spełnia tego wymogu i dlatego podlega regulacjom określonym w Rozporządzeniu 258/97 [16, 46, 47, 48].

Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne regulowane są przez Rozporządzenie nr 1924/2006. Deklarowany pozytywny wpływ na stan zdrowia i organizmu musi być udowodniony naukowo. W przypadku alg morskich oświadczenia żywieniowe i zdrowotne mogą dotyczyć np. wysokiej zawartości błonnika pokarmowego w produkcie [16, 23, 61].

W Unii Europejskiej stosowane są trzy przepisy dotyczące obrotu algami morskimi: w zakresie bezpieczeństwa żywności, nowej żywności i nowych składników żywności oraz w sprawie oświadczeń zdrowotnych i żywieniowych dotyczących żywności. Dopuszczenie do zastosowania jest pierwszym i jednocześnie najważniejszym krokiem komercjalizacji nowych produktów i składników żywnościowych zawierających algi morskie [16, 23, 61].

Algi morskie oraz produkty z nich wytwarzane muszą spełniać określone kryteria dotyczące bezpieczeństwa żywności ustanowione przez Unię Europejską. Dodatkowo każdy kraj członkowski może wprowadzić własne regulacje dotyczące dopuszczenia do spożycia i wymagań obowiązujących te organizmy. Przykładem jest Francja, która stosuje dodatkowe regulacje dotyczące dopuszczonych do konsumpcji gatunków oraz kryteriów ich jakości [23, 35].

Obecnie nie ma ustanowionego dziennego rekomendowanego spożycia (RDI) dla alg morskich. Największe spożycie tych produktów wciąż obserwowane jest w krajach azjatyckich, gdzie średnia dzienna porcja tego typu produktów waha się od pięciu do ośmiu gramów suchej masy, a w przeliczeniu na masę „mokrą” jest to od 30 do 50 gramów. Taka dawka może zostać uznana za bezpieczną i rekomendowaną ilość [34, 35, 62]. Warto jednak również nadmienić, że popularność i ciekawość związania ze spożywaniem alg morskich i produktów z ich dodatkiem jest coraz częściej obserwowana także w krajach Europy, Ameryki Północnej oraz Australii [31, 33, 65].

W Unii Europejskiej, EFSA jest odpowiedzialna za ocenę bezpieczeństwa nowych produktów spożywczych oraz pasz, zanim zostaną one zatwierdzone do produkcji i sprzedaży. Panele naukowe opracowują listę substancji biologicznych, które spełniają założenia kwalifikowanego domniemania bezpieczeństwa (ang. QPS – *Qualified Presumption of Safety*). Pomimo tego, że lista substancji spełniających założenia kwalifikowanego domniemania bezpieczeństwa na rok 2012 nie zawierała alg morskich, β -karoten otrzymywany z *Dunaliella* sp. oraz kwas DHA z *Cryptocodinium cohnii* zostały dopuszczone jako składniki żywności. Chlorella oraz spirulina są powszechnie dostępne w sprzedaży jako suplementy diety, składniki produktów spożywczych oraz samodzielne produkty zarówno w UE jak i w USA [16].

Powierzchnia alg morskich tworzy bardzo dobre środowisko do rozwoju różnych mikroorganizmów, w tym niepożądanych. Większość badań odnoszących się do aspek-

tu bezpieczeństwa mikrobiologicznego skupia się na zagadnieniach ekologicznych, takich jak liczba, różnorodność oraz rola mikroorganizmów na powierzchni alg morskich. Istnieje niewiele badań, dotyczących próby oszacowania ryzyka przetrwania patogenów na algach nieprzetworzonych. Wydaje się, że pytanie o ten aspekt bezpieczeństwa tych organizmów nadal pozostaje bez odpowiedzi [3, 16, 23, 35, 56, 59].

Zastosowanie alg morskich w produktach spożywczych

Wraz ze zmieniającymi się potrzebami konsumentów opracowywane są kolejne zastosowania alg morskich w produktach spożywczych. Ich dodatek do tradycyjnych produktów może pomóc dostosować je do zmieniających się wymagań i potrzeb konsumentów. Jadalne algi morskie są niskoenergetycznymi surowcami bogatymi w białko, duże ilości witamin i minerałów. Stanowią również bogate źródło jodu, polifenoli, karotenoidów, tokoferoli i błonnika pokarmowego. Produkty spożywcze zawierające algi morskie są obecne na rynku spożywczym od lat. Algi morskie są stosowane jako dodatek funkcjonalny do żywności lub składnik żywności. Do produktów spożywczych dodawane są zarówno w formie substancji otrzymanych z alg morskich (dodatki funkcjonalne), jak również w postaci suszonej i rozdrobnionej [17, 51, 59].

Algi morskie stanowią źródło wielu różnych hydrokoloidów wykorzystywanych w przemyśle spożywczym. Zawartość i jakość hydrokoloidów w algach morskich uwarunkowana jest czynnikami biologicznymi, fizycznymi oraz środowiskowymi. Większość hydrokoloidów zlokalizowana jest w ścianie komórkowej alg morskich. Najważniejszymi polisacharydami z alg morskich są: agar, alginiany oraz karagen, które zostały dopuszczone jako dodatki do żywności i zarejestrowane pod numerami E 400 ÷ 407 w kategorii emulgatorów, środków zagęszczających i żelujących [50]. Najczęściej wykorzystywanymi właściwościami hydrokoloidów są zdolności do stabilizowania, emulgowania, zmiany lepkości, żelowania, tworzenia pian oraz wpływ na proces krystalizacji [3, 14, 46].

Agar (E 406) otrzymywany jest głównie z czerwonych alg morskich z rodzaju *Gelidium* oraz *Gracilaria*. Agar posiada status GRAS nadany przez FDA. Zawdzięcza swoje szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym zdolności do tworzenia żeli i wysokiej temperaturze topnienia. Żele agarowe, w przeciwieństwie do żeli z dodatkiem żelatyny zachowują swoją strukturę podczas żucia. Agar nie posiada charakterystycznego smaku, stąd nie ma wpływu na właściwości sensoryczne produktów [39, 46]. Żele agarowe odgrywają ważną rolę w przetworach spożywczych i charakteryzują się dużą zawartością rozpuszczalnego błonnika, ponieważ agar jest dodatkiem do żywności o najwyższej zawartości tego błonnika, przekraczającej 94% [5]. W żelkach i galaretkach może stanowić alternatywę dla żelatyny, a w lukrze pozwala na zastosowanie mniejszej ilości wody, powodując tworzenie na pokrytej powierzchni mniej lepiącej powłoki. Agar jest również stosowany w przetwórstwie ryb jako doda-

tek do glazury, którą pokrywane są mrożone produkty. W połączeniu z innymi gumami, agar może być używany jako stabilizator w polewach i posypkach w proszku. Agar ma też zastosowanie w klarowaniu wina, w przypadkach, kiedy tradycyjne metody nie są wystarczająco wydajne. W produktach o konsystencji kremu może pełnić funkcję substancji zastępującej tłuszcz. Może być również stosowany jako krioprotektant, który minimalizuje uszkodzenia podczas mrożenia lub chłodzenia. Agar ma też zastosowanie jako substancja do tworzenia jadalnych biofilmów [39, 26, 28, 46].

Karagen (E 407) należy do grupy siarkowych polisacharydów, które otrzymywane są z czerwonych alg morskich, głównie z: *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma denticulatum* i *Chondrus crispus*. Karagen występuje w 3 frakcjach: kappa, iota oraz lambda, które wykazują różne właściwości teksturo- i strukturotwórcze. Hydrokoloid ten posiada zdolności do żelowania, emulgowania, zagęszczania oraz stabilizowania produktów spożywczych. Karagen jest często używanym dodatkiem w produktach mlecznych takich jak: lody, jogurty, ser oraz w innych produktach na bazie mleka. Karagen jest również wykorzystywany w innych produktach spożywczych np. w chlebie i w biofilmach. Żele oparte na karagenie mogą być mrożone i rozmrażane bez niszczenia swojej struktury. Dodatek tego hydrokoloidu pozwala na równe rozmieszczenie ziół lub przypraw w sosach i wytworzenie takiego samego wrażenia przy spożyciu jak odpowiednik o standardowej zawartości tłuszczu – w tym przypadku karagen pełni funkcję stabilizatora. Hydrokoloid ten stosuje się jako zamiennik tłuszczu w produktach mięsnych o obniżonej zawartości tłuszczu [7, 46].

Alginiany (E 400-405) są substancjami ekstrahowanymi z brązowych alg morskich – *Ascophyllum* sp., *Durvillaea* sp., *Ecklonia* sp., *Laminaria* sp., *Lessonia* sp., *Macrocystis* sp. i *Sargassum* sp. Posiadają trzy najważniejsze właściwości, które stanowią o ich przydatności w produktach spożywczych: zagęszczanie substancji, formowanie usieciowionych żeli przy obecności soli wapniowych bez podgrzewania oraz formowanie włókien. Zagęszczające właściwości alginianu są szczególnie przydatne w produkcji sosów, syropów, polew oraz posypek. Dodatek alginianów zapobiega zjawisku rozwarstwiania się dressingów i innych sosów. Z powodu tworzenia usieciowionych żeli są wykorzystywane w wielu produktach o zmienionej strukturze, np. w wysoce przetworzonych produktach mięsnych, warzywnych oraz w wyrobach piekarniczych. Alginiany mają zastosowanie również jako stabilizatory w produkcji lodów, ponieważ ich dodatek zapobiega powstawaniu dużych kryształów po częściowym rozmrożeniu i ponownym zamrożeniu produktu, np. po przerwaniu łańcucha chłodniczego. Są również wykorzystywane do procesu klarowania wina i usuwania niepożądanych barwników, strukturyzowania filmów i powłok jadalnych tworzenia i projektowania innowacyjnych przekąsek formowanych [12, 13, 15, 20, 25, 39, 42, 46].

Algi morskie mogą być stosowane w produktach mięsnych ze względu na właściwości żelujące, zagęszczające, strukturo- oraz teksturotwórcze. W większości przy-

padków te organizmy lub substancje z nich otrzymywane są dodatkami funkcjonalnymi. Dzięki wysokiej zawartości pełnowartościowego białka dodatek alg morskich do produktów zawierających niższe klasy mięsa może stanowić odpowiedź na problem ich zagospodarowania [14].

Ze względu na obecność karagenu w produktach mięsnych o obniżonej zawartości tłuszczu algi morskie pełnią rolę stabilizatorów i emulgatorów. Ich dodatek powoduje wytworzenie twardszej i bardziej ciągnącej się struktury mięsa o lepszych właściwościach wiążących wodę i tłuszcz. Dzięki zwiększeniu stopnia wiązania wody poprzez dodatek karagenu możliwe jest obniżenie strat podczas obróbki termicznej i podwyższenie soczystości produktów mięsnych. Dodatek *Porphyra umbilicalis* do przetworzonych produktów mięsnych podwyższa w nich zawartość białka oraz niektórych aminokwasów takich jak: seryna, alanina, walina, tyrozyna, fenyloalanina oraz arginina. Podobnie jak w przypadku *H. elongata*, dodatek nori może podnieść zawartość polifenoli w produkcie [9, 10, 14, 19].

Produkty mleczne są bogate w wiele składników odżywczych takich jak: minerały (wapń, potas, fosfor, magnez i cynk), białko i witaminy (A, D, B₂, B₁₂ i ryboflawina). Wśród produktów mlecznych najpowszechniejszymi produktami, do których dodawane są algi morskie, są sery i jogurty. Do jogurtów dodawane są najczęściej różne frakcje karagenów. Odpowiadają one za utrzymanie właściwej struktury produktu. Do niektórych jogurtów dodawane są ekstrakty ze spiruliny lub innych mikroalg w celu nadania im zielonej barwy. W badaniach opisanych przez Shul'gina i wsp. [52] opracowano probiotyczny jogurt wzbogacony o jod, pochodzący z *Laminaria* spp. W tym produkcie oznaczono średnio 570 µg jodu/100 g oraz zwiększoną zawartość Ca, K, Na, Mg i Fe w stosunku do próby kontrolnej niezawierającej alg morskich. Dodatek mikroalgi *Chlorella* sp. do serka śmietankowego spowodował zmiany w barwie i teksturze produktu, które zostały pozytywnie ocenione przez panel sensoryczny. Ponadto zaobserwowano znaczne podwyższenie wartości odżywczej wytworzonych produktów ze względu na zwiększoną zawartość białka i składników mineralnych [32, 52].

Makarony są produktami charakteryzującymi się niskim stężeniem białka i aminokwasów. Dodatek substancji wysokobiałkowych, takich jak: płatki oraz izolaty sojowe lub algi morskie może wpłynąć na zwiększenie zawartości brakujących substancji. Dodatek 0 ÷ 30 % *Undaria pinnatifida* do makaronów miał wpływ na właściwości sensoryczne, odżywcze oraz zachowanie się produktu podczas obróbki termicznej. Próby zawierające maksymalnie 20 % dodatku tej algi morskiej były oceniane jako akceptowalne w ocenie sensorycznej. Dodatek *Undaria pinnatifida* spowodował wzrost zawartości aminokwasów, kwasów tłuszczowych i ogólnej aktywności antyoksydacyjnej [14, 41]. Z uwagi na duże spożycie chleba prowadzone są badania nad wprowadzeniem alg morskich do jego składu. Dodatek 2,5 % mieszanki różnych ga-

tunków alg morskich z rodzaju *Laminaria* do chleba został określony jako najbardziej akceptowalny w ocenie sensorycznej spośród prób z dodatkiem od 2,5 ÷ 7,5% alg morskich. Większa zawartość tej mieszanki spowodowała zwiększoną twardość produktu, która nie była akceptowana podczas oceny sensorycznej [29].

Dodatek alg morskich i substancji z nich uzyskiwanych do napojów może stanowić źródło łatwo przyswajalnych substancji odżywczych. Potencjalnym problemem wydają się być cechy organoleptyczne alg morskich. Rozwiązaniem może być zastosowanie jedynie wybranych substancji uzyskiwanych z tych organizmów. Napoje z dodatkiem alg takich jak: *Ulva* sp., *Hizikia* sp., *Ecklonia* sp., wykazywały wysoką aktywność antyoksydacyjną. Problemem w tych produktach był ich zapach, barwa oraz klarowność, które zależały od gatunku, z którego zostały przygotowane [14].

Na przestrzeni ostatnich lat coraz większą popularnością cieszy się stosowanie naturalnych barwników w produktach spożywczych. Presja konsumentów na zwiększenie zastosowania naturalnych barwników towarzyszy chęci spożywania produktów o atrakcyjnej barwie. Aby sprostać wysokim wymaganiom konsumentów, producenci żywności coraz częściej decydują się na wykorzystanie barwników naturalnego pochodzenia. Jednym z chętnie stosowanych zielonych i niebieskich barwników z alg morskich jest fikocyjanina, zawarta między innymi w spirulinie. Dzięki swojej barwie, spirulina jest stosowana w różnorodnych zarówno słodkich, jak i słonych produktach spożywczych. Dodawana jest do cukierków, gum do żucia, lodów, lukrów, polew, jogurtów, budyniów oraz przetworzonych produktów na bazie sera [30].

Niektóre z gatunków alg morskich mogą zawierać substancje ograniczające rozwój mikroorganizmów. Te właściwości przypisywane są terpenoidom, sterolom i fenolom. W przemyśle spożywczym te cechy wykorzystywane są do przedłużenia trwałości produktów spożywczych. Dzięki zastosowaniu tych substancji możliwe jest ograniczenie ilości stosowanych syntetycznych konserwantów. Ponadto, czerwone gatunki alg morskich zawierają również wiele różnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Fosfolipidy mogą być spotykane w niektórych rodzajach alg morskich, a ich odporność na proces utleniania jest wyższa niż w oleju rybim. Zawartość wyżej wymienionych substancji czyni te organizmy potencjalnie użytecznymi w przemyśle spożywczym. Właściwości antyoksydacyjne mogą być wykorzystywane w dwojaki sposób: w profilaktyce niektórych chorób oraz jako dodatek do żywności zapobiegający procesom oksydacji [22].

Alginy mają również zastosowanie jako składniki powłokotwórcze. Mogą okrywać najróżniejsze produkty spożywcze i przyczyniać się do poprawy ich właściwości przechowalniczych, ułatwiać dalszą obróbkę, opóźniać procesy psucia oraz poprawiać właściwości sensoryczne. Alginy mogą mieć również pozytywny wpływ na wydłużenie okresu trwałości owoców i warzyw. W przeprowadzonych badaniach okresu przechowywania jabłek i melonów powłoki na bazie alginianów zachowywały się

jak bariera dla mikroorganizmów, co spowodowało wydłużenie okresu przechowywania tego produktu. Alginiany są również stosowane jako nośnik substancji przeciwdziałających brązowieniu np. kwasu askorbinowego lub cytrynowego [53, 55].

Algi morskie są jednak przede wszystkim stosowane do przetworzonej żywności jako dodatki funkcjonalne. Odpowiadają za utrzymanie właściwej struktury i tekstury w produktach spożywczych [22].

Jednym z kierunków wykorzystywania alg i ich produktów jest żywność i suplementy o charakterze probiotycznym. Badania nad wykorzystaniem tych składników pokazują, że algi mają potencjał zastosowania ich w roli prebiotyków. Dzięki temu połączenie ich bakteriami probiotycznymi, w tym może wpływać korzystnie na funkcjonowanie układu pokarmowego. Dzięki dużej zawartości poli- i oligosacharydów, algi stymulują rozwój i wzrost mikroflory bakteryjnej regulującej [21]. Dodatek mikroalg *Chlorella vulgaris* istotnie zwiększył przeżywalność bakterii *Lactobacillus brevis* oraz *Lactobacillus* sp. w trudnych warunkach środowiskowych spowodowanych dużym stężeniem soli żółciowych oraz niskim pH, które miały imitować warunki panujące podczas trawienia w żołądku. Otrzymane wyniki wskazują, że algi mogą być wykorzystywane także jako dodatek wart rozważenia podczas projektowania nowych produktów fermentowanych [57]. W innych badaniach wykazano pozytywny wpływ dodatku *Chlorella vulgaris* na przeżywalność bakterii mlekowych oraz ich zdolność do syntezy kwasu mlekowego oraz skrócenie czasu wzrostu i szybsze osiągnięcie fazy stacjonarnej, co jest ważne z technologicznego punktu widzenia [58].

Na rynkach światowych można znaleźć produkty takie jak: batony zbożowe, batony typu granola, płatki śniadaniowe, krakersy, chipsy, wafle ryżowe i pieczywo zawierające algi morskie. Świeże, suszone, mrożone, marynowane oraz puszkowane algi morskie są coraz łatwiej dostępne. Obecnie rynek produktów spożywczych zawierających algi morskie szacuje się na około 10 miliardów dolarów. Ponadto, ze względu na magazynowanie dwutlenku węgla przez algi, ich hodowle wpisują się w idee zrównoważonego rozwoju, podobnie jak ekonomicznie uzasadniona możliwość produkcji biodiesla na dużą skalę z wykorzystaniem mikroalg, w tym uprawy biomasy, zbioru komórek mikroalg i ekstrakcji lipidów [64]. Jednocześnie nie można pominąć faktu, że nutraceutyki na bazie alg cieszą się coraz większą popularnością ze względu na ich potencjalną skuteczność, bezpieczeństwo i przyjazność dla środowiska [1].

Zagrożenia związane ze spożyciem alg

Wykorzystanie alg jako składników żywności niesie za sobą wiele korzyści z technologicznego oraz żywieniowego punktu widzenia, natomiast nie są to surowce wolne od ryzyka. Największym zagrożeniem związanym z wprowadzaniem alg i ich pochodnych do składu produktów spożywczych jest stosunkowo wysoka zdolność bioakumulacji metali ciężkich. Badania pokazują, że w zależności od gatunku alg

zmienia się również ich powinowactwo do gromadzenia toksycznych pierwiastków. Jeżeli chodzi o algi czerwone, rodzaje *Hypnea* i *Jania* charakteryzują się większą zawartością niektórych metali, w tym manganu, niklu i ołowiu, a także chromu i kadmu, w porównaniu z innymi. Z uwagi na to sugerowane jest prowadzenie szczegółowych badań dotyczących zawartości toksycznych substancji w algach przed wprowadzaniem ich do konsumpcji oraz unikanie spożywania tych rodzajów, które mogą charakteryzować się podwyższoną zawartością niekorzystnych mikro- i makroelementów [2]. Innym pierwiastkiem mogącym występować w algach jest arsen i jego pochodne. Badania suplementów diety z dodatkiem alg wykazały, że największe stężenie tych związków wykryto w produktach, w składzie których były algi brązowe, głównie *Phaeophyta*. Nieliczne z badanych preparatów komercyjnych (kodowanych) zawierały arsen w ilościach alarmujących – takich, które w wyniku bioakumulacji wywoływanej długotrwałym i regularnym przyjmowaniem suplementów, mogłyby wykazywać działanie toksyczne [11]. Ponadto w algach mogą występować inne zagrożenia, takie jak mikroplastik, pozostałości pestycydów i zanieczyszczeń fizyko-chemicznych, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia konsumentów. Dlatego też dokładna analiza przydatności do spożycia i bezpieczeństwa tych surowców jest niezbędna, aby wyeliminować ryzyko związane ze spożywaniem produktów z dodatkiem alg i ich przetworów [6].

Podsumowanie

Reasumując, substancje bioaktywne pochodzące z alg są stosowane w przemyśle spożywczym jako środki zagęszczające, emulgatory, stabilizatory i modyfikatory tekstury. Oprócz tego, że pomagają zaspokoić potrzeby żywieniowe człowieka, wykazują także działanie wspomagające w leczeniu problemów zdrowotnych, takich jak dysfunkcja układu odpornościowego, miażdżyca, udar, choroby układu krążenia i różnego rodzaju nowotwory. Glony są obecnie uważane za potencjalne posiłki funkcjonalne lub pożywienie ze względu na ich zróżnicowany skład biochemiczny. Skład biochemiczny alg jest bardzo zróżnicowany, a postęp technologiczny ułatwił włączanie alg do artykułów spożywczych i leków. Dzięki temu wynalazkowi towary konsumpcyjne, takie jak probiotyki, napoje bezalkoholowe i śniadaniowe płatki zbożowe, mają teraz dodatkowe korzyści odżywcze. Wraz ze wzrostem stóp inflacji w ostatnich latach przyszłość wydaje się obiecująca dla komercyjnego wykorzystania alg w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym i energetycznym.

Godnym uwagi wyzwaniem jest jednak uczynienie wodorostów smaczniejszymi, aby sprostać rosnącym wymaganiom konsumentów. Co więcej, wysiłki powinny skupiać się na zwiększeniu produkcji, aby zaspokoić zapotrzebowanie na surowe wodorosty po konkurencyjnych cenach, przy czym niezbędne jest zbadanie wcześniej pomijanych źródeł glonów. Algi mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym jako

źródło składników o wysokiej wartości odżywczej, które można jeść bezpośrednio lub wykorzystać jak półprodukty do komponowania innych produktów spożywczych, ponieważ składają się głównie z rozpuszczalnego i nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego. Algi są zatem najlepszym sposobem na uzupełnienie niedoborów żywieniowych obecnej żywności ze względu na szeroką gamę składników mineralnych (żelazo i wapń), białka (ze wszystkimi niezbędnymi aminokwasami), witamin i błonnika. Biorąc pod uwagę wysoką zawartość witamin i minerałów, spożycie wodorostów może być bardzo korzystne w leczeniu anemii i innych stanów niedoboru składników odżywczych. Dotychczas opublikowane materiały dotyczące alg w produkcji żywności poruszają tematy związane z ogólnymi aspektami żywności funkcjonalnej i nutraceutyków, w tym pojawiające się trendy badawcze, rozwój produktów, możliwości rynkowe i preferencje konsumentów. Dostępne badania są na początkowym etapie i podejmują główne zagadnienia związane z charakterystyką surowców, potwierdzaniem ich właściwości zdrowotnych oraz rozwojem produktów i technologii.

Literatura

- [1] Ahmed N., Sheikh M.A., Ubaid M., Chauhan P., Kumar K., Choudhary S.: Comprehensive exploration of marine algae diversity, bioactive compounds, health benefits, regulatory issues, and food and drug applications. *Measurement: Foods*, 2024, #100163.
- [2] Ali A.Y., Idris A.M., Eltayeb M.A., El-Zahhar A.A., Ashraf I.M.: Bioaccumulation and health risk assessment of toxic metals in red algae in Sudanese Red Sea coast. *Toxin Revi.*, 2021, 40(4), 1327-1337.
- [3] Alreshidi M., Badraoui R., Adnan M., Patel M., Alotaibi A., Saeed M., ... Snoussi M.: Phytochemical profiling, antibacterial, and antibiofilm activities of *Sargassum* sp.(brown algae) from the Red Sea: ADMET prediction and molecular docking analysis. *Algal Res.*, 2023, 69, #102912.
- [4] Amin M., ul Haq A., Shahid A., Boopathy R., Syafiuddin A.: *Spirulina as a Food of the Future. In Pharmaceutical and Nutraceutical Potential of Cyanobacteria*. Cham: Springer International Publishing, 2024, pp. 53-83.
- [5] Armisen R., Gaiatas F.: Agar. In *Handbook of hydrocolloids*. Woodhead Publishing, 2009, pp. 82-107.
- [6] Banach J.L., Hoek-van den Hil E.F., van der Fels-Klerx H.J.: Food safety hazards in the European seaweed chain. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2020, 19(2), 332-364.
- [7] Bixler H.J., Porse H.: A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J. Appl. Phycol.*, 2011, 23(3), 321-335.
- [8] Bonfanti C., Cardoso C., Afonso C., Matos J., Garcia T., Tanni S., Bandarra N.M.: Potential of microalga *Isochrysis galbana*: bioactivity and bioaccessibility. *Algal. Res.*, 2018, 29, 242-248.
- [9] Cao C., Feng Y., Kong B., Xia X., Liu M., Chen J., ... Liu Q.: Textural and gel properties of frankfurters as influenced by various κ -carrageenan incorporation methods. *Meat Sci.*, 2021, 176, #108483.
- [10] Cao C., Yuan D., Kong B., Chen Q., He J., Liu Q.: Effect of different κ -carrageenan incorporation forms on the gel properties and in vitro digestibility of frankfurters. *Food Hydrocollid.*, 2022, 129, #107637.

- [11] Cheyons K., Demaegd H., Waegeneers N., Ruttens A.: Intake of food supplements based on algae or cyanobacteria may pose a health risk due to elevated concentrations of arsenic species. *Food Additiv. Contam. Part A*, 2021, 38(4), 609-621.
- [12] Ciużyńska A., Cieśluk P., Barwińska M., Marczak W., Ordyniak A., Lenart A., Janowicz, M.: Eating habits and sustainable food production in the development of innovative “healthy” snacks. *Sustainability*, 2019, 11(10), #2800.
- [13] Ciużyńska A., Marczak W., Lenart A., Janowicz M.: Production of innovative freeze-dried vegetable snack with hydrocolloids in terms of technological process and carbon footprint calculation. *Food Hydrocolloid.*, 2020, 108, #105993.
- [14] Cofrades S., López-López I., Jiménez-Colmenero F.: Applications of Seaweed in Meat-Based Functional Foods. *Handbook of marine macroalgae: Biotech. Appl. Phycol.*, 2011, 491-499.
- [15] Colonia B.S.O., de Melo Pereira G.V., de Carvalho J.C., Karp S.G., Rodrigues C., Soccol V.T., ... Soccol C.R.: Deodorization of algae biomass to overcome off-flavors and odor issues for developing new food products: innovations, trends, and applications. *Food Chem. Advan.*, 2023, #100270.
- [16] Enzing C., Ploeg M., Barbosa M., Sijtsma L.: Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. *Institute for Prospective Technological Studies* *Nutraceuticals*, 2014, 1017-1024.
- [17] Fleurence J.: Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, 10(1), 25-28.
- [18] Freitas M.V., Inácio L.G., Martins M., Afonso C., Pereira L., Mouga T.: Primary composition and pigments of 11 red seaweed species from the Center of Portugal. *J. Mar. Sci. Engineer.*, 2022, 10(9), #1168.
- [19] Garcimartín A., Benedí J., Bastida S., Sánchez-Muniz F.J.: Aqueous extracts and suspensions of restructured pork formulated with *Undaria pinnatifida*, *Himantalia elongata* and *Porphyra umbilicalis* distinctly affect the in vitro α -glucosidase activity and glucose diffusion. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2015, 64(2), 720-726.
- [20] Goraya R.K., Singla M., Bajwa U., Kaur A., Pathania S.: Impact of sodium alginate gelling and ingredient amalgamating order on ingredient interactions and structural stability of ice cream. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2021, 147, 111558.
- [21] Gupta S., Gupta C., Garg A.P., Prakash D.: Prebiotic efficiency of blue green algae on probiotics microorganisms. *J. Microbiol. Experiment.*, 2017, 4(4), 4-7.
- [22] Hafting J.T., Cornish M.L., Deveau A., Critchley A.T.: Marine algae: gathered resource to global food industry. *The Algae World*, 2015, 403-427.
- [23] Holdt S.L., Kraan S.: Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.*, 2011, 23, 543-597.
- [24] Irianto I., Naryaningsih A., Trisnawati N.W., Astuti A., Komariyah K., Qomariyah L., ... Putra N.R.: From Sea to Solution: A Review of Green Extraction Approaches for Unlocking the Potential of Brown Algae. *South Afr. J. Chem. Engineer.*, 2024, 48, 1-21.
- [25] Kadzińska J., Bryś J., Ostrowska-Ligeża E., Estéve M., Janowicz M.: Influence of vegetable oils addition on the selected physical properties of apple–sodium alginate edible films. *Polym. Bullet.*, 2020, 77, 883-900.
- [26] Kadzińska J., Janowicz M., Kalisz S., Bryś J., Lenart A.: An overview of fruit and vegetable edible packaging materials. *Pack. Technol. Sci.*, 2019, 32(10), 483-495.
- [27] Kılınc B., Cirik S., Turan G., Tekogul H., Koru E.: Seaweeds for food and industrial applications. *In Food industry. IntechOpen*, 2013.

- [28] Kowalski S., Łukasiewicz M., Juszczak L., Sikora M.: Charakterystyka teksturalna i sensoryczna mas cukierniczych otrzymanych na bazie miodu naturalnego i wybranych hydrokoloidów polisacharydowych. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2011, 18(3), 40-52.
- [29] Kwon E.A., Chang M.J., Kim S.H.: Quality characteristics of bread containing *Laminaria* powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 2003, 32(3).
- [30] Lafarga T., Fernández-Sevilla J.M., González-López C., Acién-Fernández F.G.: Spirulina for the food and functional food industries. *Food Res. Int.*, 2020, 137, #109356.
- [31] Losada-Lopez C., Dopico D.C., Faina-Medín J.A.: Neophobia and seaweed consumption: Effects on consumer attitude and willingness to consume seaweed. *Int. J. Gastronom. Food Sci.*, 2021, 24, #100338.
- [32] Lousada Falcão R., Pinheiro V., Ribeiro C., Sousa I., Raymundo A., Nunes M.C.: Nutritional improvement of fresh cheese with microalga *Chlorella vulgaris*: impact on composition, structure and sensory acceptance. *Food Technol. Biotechnol.*, 2023, 61(2), 259-270.
- [33] Lucas S., Gouin S., Lesueur M.: Seaweed consumption and label preferences in France. *Mar. Resour. Econom.*, 2019, 34(2), 143-162.
- [34] MacArtain P., Gill C.I., Brooks M., Campbell R., Rowland I.R.: Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr. Rev.*, 2007, 65(12), 535-543.
- [35] Mahadevan K.: Seaweeds: a sustainable food source. In *Seaweed sustainability* Academic Press, 2015, pp. 347-364.
- [36] Manzoor M.F., Afraz M.T., Yılmaz B.B., Adil M., Arshad N., Goksen G., ... Zeng X.A.: Recent progress in natural seaweed pigments: Green extraction, health-promoting activities, techno-functional properties and role in intelligent food packaging. *J. Agri. Food Res.*, 2024, 15, #100991.
- [37] Matos J., Afonso C., Cardoso C., Serralheiro M.L., Bandarra N.M.: Yogurt enriched with *Isochrysis galbana*: An innovative functional food. *Foods*, 2021, 10(7), #1458.
- [38] Mayer C., Côme M., Ulmann L., Martin I., Zittelli G.C., Faraloni C., ... Mimouni V.: The potential of the marine microalga *Diacronema lutheri* in the prevention of obesity and metabolic syndrome in high-fat-fed Wistar rats. *Molecules*, 2022, 27(13), 4246.
- [39] McHugh D.J. A guide to the seaweed industry. *FAO Fisheries Technical Paper 441*, Rome, 2023.
- [40] Pereira A.G., Otero P., Echave J., Carreira-Casais A., Chamorro F., Collazo N., ... Prieto M.A.: Xanthophylls from the sea: algae as source of bioactive carotenoids. *Marine Drugs*, 2021, 19(4), #188.
- [41] Prabhasankar P., Ganesan P., Bhaskar N., Hirose A., Stephen N., Gowda L.R., ... Miyashita K.J.F.C.: Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation. *Food Chem.*, 2009, 115(2), 501-508.
- [42] Qin Y.: Production of seaweed-derived food hydrocolloids. In *Bioactive seaweeds for food applications*. Academic Press, 2018, pp. 53-69.
- [43] Rahman M., Al Mamun M.A., Rathore S.S., Nandi S.K., Kari Z.A., Wei L.S., ... Kabir M.A.: Effects of dietary supplementation of natural Spirulina on growth performance, hemato-biochemical indices, gut health, and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* of Stinging catfish (*Heteropneustes fossilis*) fingerling. *Aquacult. Rep.*, 2023, 32, #101727.
- [44] Rashedy S.H., Abd El Hafez M.S., Dar M.A., Cotas J., Pereira L.: Evaluation and characterization of alginate extracted from brown seaweed collected in the Red Sea. *Appl. Sci.*, 2021, 11(14), #6290.
- [45] Rhein-Knudsen N., Ale M.T., Ajallouei F., Yu L., Meyer A.S.: Rheological properties of agar and carrageenan from Ghanaian red seaweeds. *Food Hydrocolloid.*, 2017, 63, 50-58.

- [46] Roohinejad S., Koubaa M., Barba F.J., Saljoughian S., Amid M., Greiner R.: Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.*, 2017, 99, 1066-1083.
- [47] Rozporządzenie (WE) NR 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności (Dz. Urz. UE L 43)
- [48] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 178/2002 z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającego procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz. Urz. UE L 31)
- [49] Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności (Dz. Urz. UE L 404)
- [50] Rozporządzenie (WE) nr 1333/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności (Dz.U.U.E.L.2008.354.16)
- [51] Ryabushko V.I., Gureeva E.V., Kapranov S.V., Simokon M.V., Bobko N.I.: Rare earth elements in the red, brown, green algae and the seagrass from Kazachya Bay (Crimea, Black Sea). *Reg. Stud. Mar. Sci.*, 2024, 69, #103318.
- [52] Shul'gin Y.P., Lazhentseva L.Y., Zagorodnaya G.I., Koval P.V., Koval P.V., Shulgin Y.P., ... Zagorodnaya G.I.: Probiotic drinks containing iodine. *Dairy Ind.*, 2005, (6), 38-39.
- [53] Song H., Jang A.R., Lee S., Lee S.Y.: Application of sodium alginate-based edible coating with citric acid to improve the safety and quality of fresh-cut melon (*Cucumis melo* L.) during cold storage. *Food Sci. Biotechnol.*, 2024, 33, 1741-1750.
- [54] Sousa I., Gouveia L., Batista A.P., Raymundo A., Bandarra N.M.: Microalgae in novel food products. *Food Chem. Res. Develop.*, 2008, 75-112.
- [55] Speranza B., Campaniello D., Bevilacqua A., Altieri C., Sinigaglia M., Corbo M. R.: Viability of *Lactobacillus plantarum* on fresh-cut chitosan and alginate-coated apple and melon pieces. *Front. Microbiol.*, 2018, 9, #2538.
- [56] Surendhiran D., Li C., Cui H., Lin L.: Marine algae as efficacious bioresources housing antimicrobial compounds for preserving foods-A review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2021, 358, #109416
- [57] Sylwia Ś., Elżbieta K.: Algae *Chlorella vulgaris* as a factor conditioning the survival of *Lactobacillus* spp. in adverse environmental conditions. *LWT-Food Scie. Technol.*, 2020, 133, #109936.
- [58] Ścieszka S., Klewicka E.: Influence of the Microalga *Chlorella vulgaris* on the Growth and Metabolic Activity of *Lactobacillus* spp. *Bacteria. Foods*, 2020, 9(7), #959.
- [59] Tagliapietra B.L., Clerici M.T.P.S.: Brown algae and their multiple applications as functional ingredient in food production. *Food Res. Int.*, 2023, 167, #112655.
- [60] Van De Walle S., Gifuni I., Coleman B., Baune M.C., Rodrigues A., Cardoso H., ... Van Royen G.: Innovative vs classical methods for drying heterotrophic *Chlorella vulgaris*: Impact on protein quality and sensory properties. *Food Res. Int.*, 2024, #114142.
- [61] Van der Spiegel M., Noordam M.Y., Van der Fels-Klerx H.J.: Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2013, 12(6), 662-678.
- [62] Vieira E.F., Soares C., Machado S., Correia M., Ramalhosa M.J., Oliva-Teles M.T., ... Delerue-Matos C.: Seaweeds from the Portuguese coast as a source of proteinaceous material: Total and free amino acid composition profile. *Food Chem.*, 2018, 269, 264-275.
- [63] Wan D., Wu Q., Kuča K.: Spirulina. In *Nutraceuticals*. Academic Press, 2021, pp. 959-974.


- [64] Yadav D.K., Yadav M., Mittal R., Rani P., Yadav A., Bishnoi N.R., Singh A.: Impact of silica oxide and functionalized silica oxide nanoparticles on growth of *Chlorella vulgaris* and its physicochemical properties. *Sustain. Chem. Environ.*, 2023, 3, #100029.
- [65] Young M., Paul N., Birch D., Swanepoel L.: Factors influencing the consumption of seaweed amongst young adults. *Foods*, 2022, 11(19), #3052.

MARINE ALGAE – AN UNCONVENTIONAL FOOD INGREDIENT

S u m m a r y

Background. In recent years, there has been a growing interest in substances obtained from marine algae, such as dietary fiber, hydrocolloids and bioactive substances. It results from a growing awareness of the impact of nutrition on health, which leads to the search for food ingredients that may have a beneficial effect on the human body.

Results and conclusions. Marine algae, naturally occurring in four groups differentiated by their dominant pigment, are a rich source of proteins, vitamins, minerals and essential fatty acids, offering many possibilities for use as a new food source and functional additive. Most often, algae are used as a raw material for the production of hydrocolloids, including alginate, agar, carrageenan and dyes, which are an alternative to synthetic additives. European Union regulations regarding the introduction of food products with marine algae are set out in three main legal documents. Products containing sea algae are subject to the same legal regulations as other food products, and their introduction to the market requires an authorization or notification process and proof of safe consumption. Research published so far suggests that algae themselves, or ingredients extracted from them, can be successfully used as additives shaping the physicochemical and sensory properties of a wide range of meat, dairy, bakery and pastry, as well as fruit and vegetable products. Introducing algae into people's daily diet can support the functioning of their bodies and the treatment of various health problems. Due to the presented properties, the prospect of using algae in the food industry seems promising, requiring further research and innovation.

Keywords: marine algae, alginate, carrageenan, spirulina, food 

NATALIA POLAK, STANISŁAW KALISZ, BARTOSZ KRUSZEWSKI

PRZEPLYWOWA PASTERYZACJA MIKROFALOWA PRODUKTÓW OWOCOWYCH I WARZYWNYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Ogrzewanie mikrofalowe jest jedną z metod stosowanych podczas szeroko rozumianego przetwarzania żywności, budzącą szerokie zainteresowanie w Europie i Ameryce Północnej. W niniejszej pracy przedstawiono mechanizm oddziaływania promieniowania mikrofalowego oraz sposób jego zastosowania w przemyśle spożywczym. Przybliżono wykorzystanie i wpływ przepływowej pasteryzacji mikrofalowej na jakość produktów owocowo-warzywnych w aspekcie ważniejszych wyróżników jakościowych, tj. trwałości mikrobiologicznej, aktywności enzymatycznej, podstawowych wyróżników fizykochemicznych, barwy, zawartości ważniejszych grup substancji bioaktywnych oraz aktywności przeciwutleniającej.

Wyniki i wnioski. Przepływowa pasteryzacja mikrofalowa wykorzystywana jest do utrwalania płynnych i półpłynnych produktów takich jak purée, soki, napoje oraz zupy. Odpowiednia kombinacja parametrów determinuje skuteczną inaktywację mikroorganizmów oraz enzymów. Metoda ta nie wpływa istotnie na zmianę pH, kwasowości miareczkowej czy ekstraktu. W literaturze wskazano na zróżnicowany wpływ pasteryzacji mikrofalowej na stopień zmiany barwy, uzależniony od zastosowanych parametrów oraz matrycy żywnościowej. W większości przypadków pozwala na lepszą retencję składników bioaktywnych w porównaniu z tradycyjną pasteryzacją ze względu na krótszy czas oddziaływania wysokiej temperatury. Badania wskazują na możliwość wzrostu ogólnej zawartości związków polifenolowych w przypadku utrwalania mikrofalowego produktów zawierających tkankę surowca. Przepływowa pasteryzacja mikrofalowa jest niekonwencjonalną techniką utrwalania w branży owocowo-warzywniej, pręźnie rozwijającą się w ostatnich latach. Ze względu na korzyści ekonomiczne procesu oraz potencjalnie wyższą jakość otrzymywanych produktów w porównaniu z konwencjonalnymi technikami utrwalania, metoda ta zyskuje na popularności.

Słowa kluczowe: przepływowa pasteryzacja mikrofalowa, niekonwencjonalne techniki utrwalania, substancje bioaktywne, aktywność enzymatyczna, aktywność przeciwutleniająca

Mgr inż. N. Polak ORCID: 0000-0003-1861-1507; dr hab. inż. prof. SGGW S. Kalisz ORCID: 0000-0001-7592-2470; dr inż. B. Kruszewski ORCID: 0000-0001-8762-7460; Katedra Technologii i Oceny Żywności, Zakład Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa. Kontakt: email: natalia_polak@sggw.edu.pl

Wprowadzenie

Owoce i warzywa są cennym źródłem składników odżywczych, jak i licznych substancji bioaktywnych. Sezonowość ich występowania oraz zbioru, ograniczone możliwości przechowywania, a także wymagania konsumenckie determinują konieczność ich przetwarzania i zapewniania długiego okresu przydatności do spożycia. W branży owocowo-warzywnej oprócz metod chłodniczych najczęstszymi technikami utrwalania wyrobów gotowych są: pasteryzacja i sterylizacja, które charakteryzują się stosunkowo długim czasem oddziaływania wysokich temperatur na produkt. Pomimo zapewnienia odpowiedniej trwałości mikrobiologicznej, często determinują negatywne zmiany wyróżników jakościowych, obniżając ich wartość żywieniową oraz wpływając na ocenę sensoryczną. W związku z tym poszukiwane są nowe metody, które mogłyby zapewnić nie tylko bezpieczeństwo, ale również lepszą jakość fizykochemiczną i organoleptyczną. Obiecujące wyniki w tym zakresie daje wykorzystanie ogrzewania mikrofalowego w różnych procesach przetwarzania i utrwalania żywności. Jedną z mniej zbadanych technik, aczkolwiek pretendujących do szybkiego rozwoju w branży owocowo-warzywnej, jest przepływowa pasteryzacja mikrofalowa, co wynika z intensywnego rozwoju oferty produktów płynnych i półpłynnych.

Celem niniejszej publikacji było przedstawienie mechanizmu oddziaływania promieniowania mikrofalowego, sposobu wykorzystania w przepływowej pasteryzacji, jak również wykazanie korzyści i wad tego procesu. Przybliżono udokumentowane zastosowanie i wpływ tej metody na jakość produktów owocowo-warzywnych w aspekcie wyróżników jakościowych, tj. trwałości mikrobiologicznej, aktywności enzymatycznej, podstawowych wyróżników fizykochemicznych, parametrów barwy, zawartości substancji bioaktywnych, aktywności przeciwtleniającej oraz cech sensorycznych.

Mechanizm oddziaływania promieniowania mikrofalowego

Promieniowanie mikrofalowe obejmuje fale elektromagnetyczne o częstotliwości od 0,3 do 300 GHz i długości od 0,001 do 1 m. W domowych kuchenkach mikrofalowych stosowane są fale o częstotliwości 2450 MHz, zaś w urządzeniach przemysłowych – 915 MHz i 896 MHz [9]. Oddziaływanie na żywność wiąże się z dwoma głównymi mechanizmami. Pierwszy, polaryzacja dipolowa, związany jest z szybką zmianą orientacji cząsteczek o dużym momencie dipolowym, czyli głównie wody. Podczas tego procesu następuje sinusoidalna zmiana natężenia pola elektrycznego. Wiąże się to z tym, że cząsteczki poruszają się ruchem uporządkowanym, zgodnym z kierunkiem i zwrotem linii pola, gdy się w nim znajdują, lub chaotycznym, gdy natężenie pola wynosi zero, prowadząc do zderzeń z innymi cząsteczkami i przekazywania energii. Drugim mechanizmem jest przewodnictwo elektryczne. Jony w następstwie ruchu

w polu elektrycznym, w kierunku zależnym od ładunku, zyskują energię, którą dalej przekazują poprzez zderzenia innym cząsteczkom. Podobnie jak w przypadku polaryzacji dipolowej, zmiana kierunku ruchu jonów następuje dwukrotnie w trakcie cyklu. W związku z faktem, że w przypadku produktów żywnościowych woda stanowi główny składnik, polaryzacja dipolowa jest mechanizmem dominującym podczas ogrzewania [13].

Zastosowanie pasteryzacji przepływowej w przemyśle spożywczym

Pierwsze wykorzystanie mikrofal na szerszą skalę do procesu pasteryzacji odbyło się w 1974 roku do pakowanego chleba krojonego [16]. W przypadku pasteryzacji przepływowej pierwsze badania przeprowadzono w 1975 roku na mleku [12]. W technologii żywności mikrofałe stosowane są do realizacji rozmaitych procesów. W przypadku przetwarzania żywności wykorzystywane są w procesach rozmrażania, blanszowania, pasteryzacji, sterylizacji czy suszenia. Mikrofałe są stosowane także w procesach zarządzania odpadami [9]. Procesy pasteryzacji i sterylizacji mikrofalowej żywności mogą być przeprowadzane w różnego typu urządzeniach, takich jak suszarki bębnowe, suszarki taśmowe, komory ciśnieniowe, domowe kuchenki mikrofalowe czy pasteryzatory przepływowe [12, 16]. W związku z faktem, że dużą część asortymentu branży owocowo-warzywnej stanowią produkty o konsystencji płynnej lub półpłynnej, a asortyment tych produktów intensywnie się rozwija, na znaczeniu zyskuje pasteryzacja w przepływie.

Prototyp pasteryzatora przepływowego, będącego na stanie Wydziału Technologii Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, przedstawiono na rycinie 1, a jego uproszczony schemat na rycinie 2. Składa się z kilku głównych części: układu rurowego, zbiornika wejściowego, pompy, procesora mikrofalowego, generatora mikrofal, chłodnicy, zbiornika wyjściowego, przepływomierza oraz czujników temperatur. Ponadto pasteryzator zawiera elektroniczny system sterowania pozwalający na monitorowanie parametrów procesu, takich jak prędkość przepływu, moc mikrofal, utrzymanie zadanej temperatury pasteryzacji. Zależnie od potrzeb możliwe jest zarówno jednokrotne przejście produktu przez układ bądź wielokrotne.

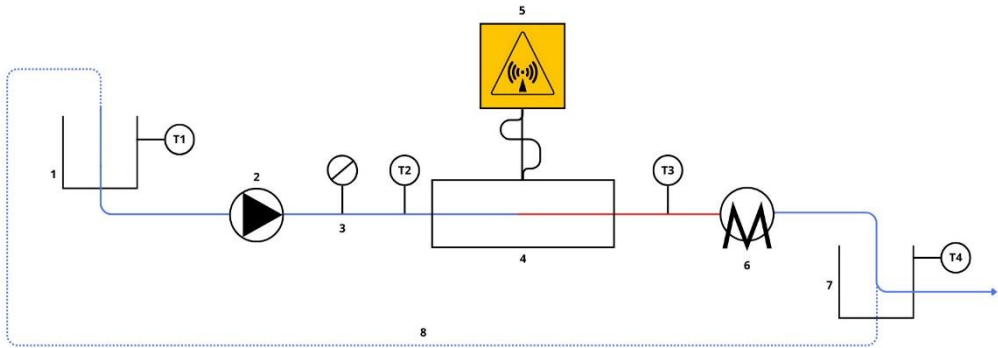
W literaturze przedmiotu wciąż jest mało doniesień odnoszących się konkretnie do pasteryzacji mikrofalowej w przepływie produktów owocowo-warzywnych. Znaczna część publikacji wskazuje na wykorzystanie pieców mikrofalowych i domowych kuchenek mikrofalowych, a utrwalane produkty znajdują się na tackach czy w opakowaniach takich jak butelki czy słoiki. Wynika to w głównej mierze z faktu małej ilości urządzeń umożliwiających utrwalanie mikrofalami w przepływie na mniejszą skalę, co dałoby możliwość intensywniejszego rozwoju prac rozwojowo-badawczych. Z uwagi na dużą potrzebę wprowadzenia jej na szeroką skalę w przemyśle, metoda ta powinna być pręźnie rozwijana i badana z użyciem kolejnych matryc żywnościowych. W litera-

turze można znaleźć doniesienia o badaniach mikrofalowej pasteryzacji przepływowej w kontekście obróbki cydru jabłkowego [7], purée truskawkowego [10, 11], purée ze słodkich ziemniaków [4, 5, 25], purée z mango [14], soku pomidorowego [26], zupy wielowarzywnej [21], soku pomarańczowego [2, 3], soku jabłkowego [15, 22, 24], napoju z orzechów ziemnych [20], soku z kawa kawa [1], soku marchwiowego [19], soku z trzciny cukrowej [6], pulpy pomidorowej [27], soku z jagody kamczackiej [17]. Prowadzone są również badania na produktach modelowych [23].



Rycina 1. Przepływowy pasteryzator mikrofalowy do produktów płynnych W0314 (Weindich SP.J.) znajdujący się na Wydziale Technologii Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, funkcjonujący w ramach Centrum Badawczo-Rozwojowego Żywności i Żywnienia (CŻiŻ). Źródło: fotografia własna autorki.

Figure 1. W0314 continuous flow microwave pasteurizer (Weindich SP.J.) for liquid products located at the Department of Food Technology at the Warsaw University of Life Sciences, operating as part of the Research and Development Center for Food and Nutrition (CŻiŻ). Source: the author's own photography.



Rycina 2. Schemat pasteryzatora mikrofalowego W0314 (Weindich SP.J.). Oznaczenia: 1 – zbiornik wejściowy, 2 – pompa, 3 – przepływomierz, 4 – procesor mikrofalowy, 5 – generator mikrofal, 6 – chłodnica, 7 – zbiornik wyjściowy, 8 – recyrkulacja (jeśli potrzeba), T1 – czujnik temperatury zbiornika wejściowego, T2 – czujnik temperatury produktu na wejściu, T3 – czujnik temperatury produktu na wyjściu, T4 – czujnik temperatury zbiornika wyjściowego. Źródło: opracowanie własne.

Figure 2. Diagram of the W0314 continuous flow microwave pasteurizer for liquid products (Weindich SP.J.). Designations: 1 – input tank, 2 – pump, 3 – flow meter, 4 – microwave processor, 5 – microwave generator, 6 – cooler, 7 – output tank, 8 – recirculation (if needed), T1 – input tank temperature sensor, T2 – input product temperature sensor, T3 – output product temperature sensor, T4 – output tank temperature sensor. Source: the author's own work.

Wady i zalety przepływowej obróbki mikrofalowej

Badania wskazują, że zastosowanie ogrzewania mikrofalowego może znacząco skrócić czas trwania procesu oraz zmniejszyć koszty procesu w porównaniu z tradycyjną pasteryzacją czy sterylizacją [12]. Produkty utrwalane mikrofalowo zazwyczaj charakteryzują się lepszymi cechami organoleptycznymi czy właściwościami fizykochemicznymi, jak np. zawartość witamin [12, 18, 26]. Technika ta nie powoduje emisji spalin i toksycznych odpadów do środowiska [8]. Ponadto przepływowa pasteryzacja mikrofalowa może być skuteczna w inaktywacji drobnoustrojów oraz enzymów [1]. Podkreśla się, że mikrofałe są jedną z metod stosowanych podczas szeroko rozumianego przetwarzania żywności, budzącą szerokie zainteresowanie w Europie i Ameryce Północnej [3]. Ponadto obecnie może być rozważane wykorzystanie rozwijającej się sztucznej inteligencji do modelowania, analizy, wykrywania i kontroli najważniejszych punktów procesu w obróbce mikrofalowej [28].

Z drugiej strony, podczas procesu mikrofalowej pasteryzacji przepływowej temperatura może być nierównomiernie rozłożona, stwarzając potencjalne zagrożenia w kwestii bezpieczeństwa i jakości [12, 26]. Rozkład dostarczonej energii związany jest z częstotliwością zastosowanych mikrofal. Wyższe częstotliwości pozwalają na szybsze ogrzewanie, ale na mniejszych głębokościach. Zastosowanie fal o wyższej

częstotliwości pozwala na uniknięcie przegrzewania czy niedogrzewania produktu poprzez lepsze rozłożenie energii. W celu dostatecznej eliminacji mikroorganizmów konieczne jest ciągle monitorowanie temperatury w ogrzewanym produkcie, co najczęściej sprowadza się do zastosowania temperatur wyższych niż optymalne. W przepływowych pasteryzatorach mikrofalowych utrudnione może być utrwalanie produktów o większej lepkości, a tym samym o większym oporze przepływu [12]. Badacze wskazują, że do 2024 roku w Stanach Zjednoczonych nadal nie wprowadzono komercyjnego przepływowego mikrofalowego utrwalania żywności wielofazowej (faza płynna z cząstkami stałymi) ze względu na zróżnicowany transfer energii między cząstkami o różnym stanie skupienia w przepływie ciągłym [21]. Należy podkreślić, że końcowy efekt ściśle zależy od doboru parametrów procesu obróbki mikrofalowej do określonej matrycy żywnościowej.

Wpływ przepływowej obróbki mikrofalowej na jakość produktów

Trwałość mikrobiologiczna

Pierwsze badania dotyczące purée warzywnego utrwalanego przepływową pasteryzacją mikrofalową (135 °C/30 s), a następnie pakowanego aseptycznie, wykazały brak obecności żywych kolonii bakterii, pleśni i drożdży po 1, 15 i 90 dniach przechowywania [5]. Skuteczność przepływowej pasteryzacji mikrofalowej potwierdzili również Stratakos i wsp. [26]. Porównali oni pasteryzowany mikrofalowo (85 °C, 81,8 s, 100 l/h) i konwencjonalnie (85 °C/5 min) sok pomidorowy bezpośrednio po utrwaleniu, jak i w trakcie 56-dniowego przechowywania w 4 °C. Bezpośrednio po utrwaleniu w obu wariantach soków całkowita liczba żywych drobnoustrojów (TVC), bakterii mlekowych, bakterii *Enterobacteriaceae* oraz drożdży i pleśni była poniżej granicy wykrywalności. W przypadku wszystkich grup drobnoustrojów ich liczba nie zwiększyła się przez cały okres przechowywania. Zaś TVC były zidentyfikowane w dniu 28. w ilości 2,13 i 2,00 log jtk/ml odpowiednio dla soków pomidorowych utrwalanych tradycyjnie i mikrofalowo (brak istotnej różnicy między metodami) i dalej nie wzrosły istotnie. Również całkowitą inaktywację bakterii oraz drożdży i pleśni zaobserwowano w soku z aronii oraz soku z jagody kamczackiej pasteryzowanym mikrofalowo w temperaturach 90 ÷ 135 °C. Jednocześnie w eksperymencie wykazano, że zastosowanie temperatury 80 °C nie pozwoliło na pełną inaktywację bakterii [17]. Marszałek i wsp. [10] potwierdzili skuteczność przepływowej pasteryzacji mikrofalowej (80 °C/7 s, 90 °C/7 s, 90 °C/10 s i 120 °C/10 s) w inaktywacji drożdży i pleśni w purée truskawkowym. Temperatury procesu poniżej 100 °C nie pozwoliły na obniżenie ogólnej liczby drobnoustrojów poniżej granicy detekcji. Ci sami badacze [11], kontynuując badania nad purée truskawkowym, zaobserwowali, że w związku z niedostatecznym zmniejszeniem liczby drobnoustrojów ogółem w próbie utrwalonej mikrofalowo

w 90 °C, zapewniona została trwałość przez 44 tygodnie, w przeciwieństwie do purée utrwalanego w 120 °C, gdzie odnotowano znaczne zwiększenie trwałości produktu (52 tygodnie). Z kolei Abdullah i wsp. [1] wykazali, że ogólna liczba drobnoustrojów w soku z kawa kawa zmalała o 0,81, 2,61 i 3,86 cykli logarytmicznych w porównaniu z próbą surową – odpowiednio po utrwaleniu w przepływowym pasteryzatorze mikrofalowym z zastosowaniem parametrów 330 W, 255 ml/min i 41,4 °C; 440 W, 255 ml/min i 52,3 °C oraz 550 W, 255 ml/min i 65,2 °C [1]. Duhan i Kar [6] wykazali, że pasteryzacja mikrofalowa obniżyła liczbę żywotnych bakterii o około 3 cykle logarytmiczne, ale nie wyeliminowała ich całkowicie w soku z trzciny cukrowej. Zastosowanie obróbki mikrofalowej okazało się również skuteczniejsze niż tradycyjna pasteryzacja. Badacze wskazali, że dłuższa ekspozycja na mikrofałe powoduje większą dekontaminację.

Aktywność enzymatyczna

Badania dotyczące modelowania i eksperymentalnej walidacji profilu czasowo-temperaturowego przepływowej pasteryzacji mikrofalowej soku pomarańczowego wykazały, że warunki 90 °C i 100 °C oraz czas utrzymywania wskazanych temperatur przez 2 ÷ 10 s zapewniają w co najmniej 98 % inaktywację pektynometyloesterazy [2]. Rayman i Baysal [19] wykazali całkowitą inaktywację tego samego enzymu w pasteryzowanym mikrofalowo soku marchwiowym. Z kolei badania modelowe na mętym soku jabłkowym pozwoliły na porównanie różnych warunków przepływowej pasteryzacji mikrofalowej (przepływ 0,4 lub 0,8 l/min i temperatura procesu 70 °C, 80 °C i 90 °C) w aspekcie aktywności trzech enzymów [22]. W wyniku tego eksperymentu wykazano, że wraz ze wzrostem temperatury następowało zwiększenie inaktywacji badanych enzymów, jednak żaden z rozpatrywanych wariantów pasteryzacji mikrofalowej nie pozwolił na całkowitą inaktywację pektynometyloesterazy, zaś obecności oksydazy polifenolowej nie odnotowano w trzech wariantach (0,8 l/min i 80 °C, 0,4 l/min i 90 °C, 0,8 l/min i 90 °C), a peroksydazy – w dwóch (0,4 l/min i 90 °C, 0,8 l/min i 90 °C). Niedostateczną dezaktywację enzymów przy zastosowaniu przepływowej pasteryzacji mikrofalowej przedstawiają również Marszałek i wsp. [10] w purée truskawkowym. Wśród porównywanych metod utrwalania wyłącznie konwencjonalna pasteryzacja pozwoliła na skuteczną inaktywację oksydazy polifenolowej i peroksydazy. Zastosowanie parametrów obróbki mikrofalowej 90 °C/7 s, 90 °C/10 s i 120 °C/10 s pozwoliło na znaczący spadek aktywności oksydazy polifenolowej, o około 80 %. Najgorszą efektywnością charakteryzowała się przepływowa pasteryzacja mikrofalowa w 80 °C przez 7 s, powodując inaktywację powyższych enzymów jedynie o około 62 %. Wskazane parametry okazały się skuteczniejsze w przypadku peroksydazy. Zastosowanie 10-sekundowego ogrzewania zapewniło wyższy stopień inaktywacji – około 88 %, zaś 7-sekundowego – około 78 %. Duhan i Kar [6] w soku

z trzciny cukrowej również zaobserwowali niecałkowitą inaktywację oksydazy polifenolowej po pasteryzacji mikrofalowej, aczkolwiek wyniki były lepsze niż w przypadku tradycyjnej pasteryzacji. Badacze zauważyli również, iż stopień inaktywacji wzrastał wraz ze zmniejszeniem zastosowanej mocy mikrofal, a tym samym z wydłużeniem czasu ich oddziaływania do uzyskania założonej temperatury procesu.

Podstawowe wyróżniki jakościowe

Przedstawiane w literaturze wyniki badań produktów utrwalonych z zastosowaniem mikrofalowej pasteryzacji przepływowej dowodzą braku wpływu tej metody na podstawowe wyróżniki jakościowe. Stratakos i wsp. [26] nie wykazali istotnych różnic między sokiem pomidorowym utrwalanym z użyciem mikrofal i bez nich w aspekcie ekstraktu (2,25 °Brix w obu przypadkach), kwasowości miareczkowej (0,35 ÷ 0,44 g kwasu cytrynowego/100 g) i pH (4,20 ÷ 4,26). Sok utrwalony mikrofalowo wykazywał około dwukrotnie większą mętność serum. W trakcie przechowywania zmętnienie malało do 14. dnia w przypadku próby utrwalanej mikrofalowo oraz do 28. podczas zastosowania konwencjonalnej pasteryzacji. Również Amaro i wsp. [2] nie wykazali istotnych zmian bezpośrednio po utrwaleniu w pasteryzatorze przepływowym, bez użycia promieniowania mikrofalowego oraz z jego użyciem, soku pomarańczowego w aspekcie pH (odpowiednio 4,08 i 4,03), kwasowości miareczkowej (0,603 i 0,598 g kwasu cytrynowego/100 ml) oraz ekstraktu (10,08 i 9,94 °Brix). Analogiczne wnioski wysunęli Rayman i Baysal [19] w kwestii kwasowości miareczkowej oraz Duhan i Kar [6] w kwestii pH i ekstraktu. Ostatni badacze podkreślili ponadto, że różne warianty zastosowanych parametrów mikrofal (210, 280, 350, 420 lub 490 W do uzyskania 70 °C; a następnie 10 min utrzymywania temperatury 70 °C) nie spowodowały istotnych różnic ekstraktu i pH soku z trzciny cukrowej.

Zawartość składników bioaktywnych

Atuonwu i wsp. [3] wskazali, że pod względem zawartości witaminy C nie ma istotnej różnicy między surowym sokiem pomarańczowym a sokiem utrwalanym mikrofalowo (75 °C/26 s) lub z zastosowaniem HTST (76,8 °C/15 s) oraz wysokimi ciśnieniami hydrostatycznymi (600 MPa/3 min). Badania Amaro i wsp. [2] pozwoliły wykazać retencję witaminy C na poziomie odpowiednio: 94, 92, 89 i 87 % dla soku pomarańczowego utrwalonego mikrofalami w temperaturach: 70, 80, 90 i 100 °C, zaś dla tradycyjnego procesu odpowiednio: 92, 87, 85 i 82 %. Marszałek i wsp. [10] określili retencję witaminy C (sumy kwasu askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego) w purée truskawkowym na poziomie 78 ÷ 96 % w zależności od zastosowanych parametrów pasteryzacji mikrofalowej, co było ponad dwukrotnie większą wartością niż dla pasteryzacji w 90 °C przez 15 minut. Badanie potwierdziło, że stopień degradacji witaminy C, z uwagi na jej wysoką termolabilność, zwiększa się wraz ze wzrostem

temperatury i wydłużaniem czasu jej utrzymywania. Należy podkreślić, że o stopniu degradacji decyduje również dostęp do tlenu, obecność metali i innych reaktywnych jonów.

Jedne z pierwszych badań dotyczące ogrzewania mikrofalowego purée warzywnego dotyczyły wykorzystania pilotażowego urządzenia mikrofalowego o mocy 60 kW [25]. Badania z zastosowaniem przepływu 5,7 l/min i temperatur z zakresu 135-145 °C utrzymywanych przez 30 s wykazały, że całkowita zawartość polifenoli w purée ze słodkich ziemniaków wzrosła o 5,9 %, zaś oznaczonych monomerów antocyjanów spadła o 14,5 %. Potwierdziło to możliwość wzrostu ogólnej zawartości związków polifenolowych w przypadku utrwalania mikrofalowego produktów zawierających tkankę surowca. Znalazło to potwierdzenie również w innych badaniach, jednakże jak dotąd mechanizm ten nie został jeszcze w pełni wyjaśniony. Przymuszczenie promieniowanie mikrofalowe oddziałujące z tkanką surowca ułatwia uwalnianie się polifenoli ze struktur komórkowych. Efekt ten zauważano również w niepublikowanych badaniach własnych. Siguemoto i wsp. [24] zbadali pasteryzację przeplywową i pasteryzację wspomaganą mikrofalami w różnych wariantach temperatury (70 °C, 80 °C, 90 °C) i przepływu (0,9 i 0,5 l/min dla pasteryzacji zwykłej i 0,8 i 0,4 l/min dla mikrofal). W przypadku pierwszej metody uzyskano całkowitą zawartość polifenoli na poziomie od 7,46 do 10,50 mg/100 ml, zaś w drugiej od 5,69 do 8,02 mg/100 ml, gdzie mętny sok jabłkowy niepoddany utrwalaniu zawierał 4,85 mg/100 ml. Każdy z procesów (oprócz pasteryzacji mikrofalowej o temperaturze 70 °C i przepływie 0,8 l/min) spowodował istotny wzrost zawartości polifenoli ogółem. W następstwie pasteryzacji mikrofalowej ilość kwasu chlorogenowego, epikatechiny i floryzyny wzrosła odpowiednio o 9 ÷ 34 %, 27 ÷ 256 % i 44 ÷ 106 % w porównaniu z próbą surową. Autorzy badania wskazują, że zaobserwowane zwiększenie zawartości tych związków mogło być związane z efektywniejszą ekstrakcją (na skutek hydrolizy form związanych do form wolnych) bądź częściową lub całkowitą inaktywacją oksydazy polifenolowej i peroksydazy w zależności od zadanych parametrów (co chroni polifenole). Wzrost zawartości polifenoli ogółem na skutek pasteryzacji mikrofalowej (90 ml/min, 900 W, 99 °C) o 1,4 % w porównaniu z próbą kontrolną zaobserwowali także Rayman i Baysal [19] w soku z marchwi. Jednocześnie w przypadku próby pasteryzowanej (100 °C/10 min), zaobserwowano istotny spadek badanych związków o 12 %. Po 4 miesiącach przechowywania między próbą konwencjonalną a tradycyjną nie odnotowano istotnych różnic. Marszałek i wsp. [10] wykazali wzrost zawartości kwasów fenolowych (p-hydroksybenzoesowego i elagowego) i flawonoli (kwercetyny i kampfferolu), zaś spadek zawartości polifenoli ogółem oraz sumy oznaczonych antocyjanów w purée truskawkowym w porównaniu ze świeżymi truskawkami, odpowiednio o 35 ÷ 73 %, 25 ÷ 45 %, 37 ÷ 62 %, 12 ÷ 41 %, 4 ÷ 7 % 12 ÷ 23 % w zależności od zastosowanych parametrów ogrzewania mikrofalowego. Badacze podkreślili, że wzrost

temperatury procesu nie spowodował znaczącego wpływu na zawartość polifenoli ogółem. W przypadku wskazanych związków bioaktywnych to działanie mikrofal, a nie tradycyjna pasteryzacja okazały się lepsze.

Aktywność przeciwutleniająca

Stratakos i wsp. [26] zmierzili aktywność przeciwutleniającą dwiema metodami ABTS i ORAC w soku pomidorowym utrwalanym mikrofalowo i tradycyjnie. W przypadku pierwszej z metod pomiaru próbka po mikrofalach miała istotnie statystycznie wyższą aktywność (o 47 %), zaś w drugiej nieistotnie wyższą (o 24 %). Badacze wskazują, że zróżnicowana wielkość zmian między ABTS i ORAC wynika głównie ze specyfiki tych metod pomiaru pojemności przeciwutleniającej. Na końcu 56-dniowego okresu przechowywania, w przypadku zastosowania obu metod pomiaru, nie zauważono istotnych zmian aktywności dla soku po obróbce mikrofalowej w przeciwieństwie dla tego pasteryzowanego tradycyjnie. Podobną tendencję wykazali Siguemoto i wsp. [24]. Utrwalony różnymi wariantami mikrofalowej pasteryzacji przepływowej mętny sok jabłkowy miał większą aktywność przeciwutleniającą (w związku ze wzrostem zawartości polifenoli ogółem po procesie) zmierzoną metodą DPPH o $70 \div 198$ % i ORAC o $42 \div 91$ % niż próba nieutrwalana. Również sok marchwiowy utrwalał mikrofalami (90 ml/min, 900 W, 99 °C) wykazywał prawie dwukrotnie większą pojemność antyutleniającą niż próba kontrolna i około trzykrotnie niż pasteryzowana tradycyjnie (100 °C/10 min). Z drugiej strony, to próba utrwalana niekonwencjonalnie wykazywała mniejszą aktywność po 4 miesiącach przechowywania [19]. Odmienne zależności zaobserwowali Duhan i Kar [6]. Tradycyjna pasteryzacja (70 °C/10 min) i mikrofalowa (210, 280, 350, 420 lub 490 W do uzyskania 70 °C; 10 min utrzymywania temperatury 70 °C) znacząco obniżyły pojemność antyutleniającą w porównaniu z próbą surową, jednakże to metoda niekonwencjonalna pozwoliła na jej większą retencję. Wzrost zastosowanej mocy mikrofal przy utrzymaniu tej samej temperatury procesu, a tym samym krótszy czas ekspozycji na działanie promieniowania w celu podgrzania soku, pozwolił na zwiększenie stopnia zachowania aktywności. Z kolei brak istotnego wpływu mikrofal na pojemność antyutleniającą zmierzoną z użyciem rodnika DPPH i metody ORAC odnotowali Steed i wsp. [25] w badaniach nad purée z batatów.

Barwa

Coronel i wsp. [5] utrwalili purée z batatów w trzech temperaturach: 110 °C, 130 °C i 140 °C. Nie odnotowali istotnej zmiany parametrów L^* (spadek o $2 \div 3$ %) i a^* (spadek o $8 \div 11$ %) wobec próby nieutrwalanej, zaś parametr b^* wzrósł istotnie o $5 \div 11$ %. Przy czym między próbkami utrwalanymi w 130 °C i 140 °C nie było istotnej różnicy. Bezwzględna różnica barwy (ΔE) liczona względem purée przed pastery-

zają wyniosła odpowiednio 10, 20 i 20 dla wskazanych temperatur. Marszałek i wsp. [10] dokonali oceny ΔE między próbami nieutrwalonymi purée truskawkowego a pasteryzowanymi konwencjonalnie (90 °C/15 min) i utrwalanymi mikrofalami (90 °C/10 s, 120 °C/10 s, 80 °C/7 s, 90 °C/7 s). Każdy z wariantów ogrzewania mikrofalowego powodował znacząco mniejszą zmianę barwy (ΔE od 0,65 do 1,41) niż proces tradycyjny ($\Delta E = 3,00$). Przeciwnie, Stratakos i wsp. [26], którzy badali sok pomidorowy, nie zaobserwowali istotnej różnicy parametrów barwy między konwencjonalną a mikrofalową pasteryzacją. Rayman i Baysal [19] odnotowali znaczące zmiany w barwie soku marchwiowego utrwalonego technikami mikrofalową i konwencjonalną – ΔE wyniosła odpowiednio 10,63 i 10,30.

Ocena organoleptyczna

W wyniku badań organoleptycznych nie wykazano różnic w zakresie zapachu, smaku, kwasowości i słodkości, jak i w ogólnym poziomie akceptowalności między mikrofalowo a tradycyjnie utrwalanym sokiem pomidorowym. Niższą notę w aspekcie wyglądu ogólnego otrzymał pierwszy ze wspomnianych soków, co może wiązać się z wyższą mętnością serum [26]. Na podstawie analizy organoleptycznej purée truskawkowych utrwalonych w różnych temperaturach (pary 90 °C/10 s i 120 °C/10 s oraz 80 °C/7 s i 90 °C/7 s), nie wykazano istotnej różnicy w ocenach barwy, smaku, aromatu, konsystencji i ogólnej jakości między nimi [10]. Jednakże porównując z próbami nieutrwalanymi, zauważono znaczące zmiany. W obu parach gorzej został oceniony smak, aromat i uzyskano niższą ogólną ocenę. Próby mikrofalowe 90 °C/10 s i 120 °C/10 s porównano również z tymi utrwalonymi tradycyjną pasteryzacją (90 °C/15 min) i przyznano wyższą notę w ogólnej ocenie [10].

Podsumowanie

Niniejsze opracowanie wskazuje, że odpowiednie dostosowanie parametrów obróbki mikrofalowej pozwala na uzyskanie jakości zbliżonej do produktu surowego oraz o jakości zbliżonej do tradycyjnego procesu utrwalania produktów owocowo-warzywnych bądź wyższej od niej. Przepływowa pasteryzacja mikrofalowa może mieć szerokie zastosowanie w przemyśle owocowo-warzywnym ze względu na możliwość regulacji mnogiej liczby parametrów, a tym samym optymalnego doboru do danej macierzy żywnościowej. W związku ze wskazanymi korzyściami prognozuje się bardziej dynamiczny rozwój tej techniki w przemyśle owocowo-warzywnym. Wymagane są dalsze badania nad wpływem pasteryzacji mikrofalowej na retencję i biodostępność związków bioaktywnych w utrwalanej żywności. Szczególnie ważne jest poznanie mechanizmu zwiększenia zawartości polifenoli pod wpływem obróbki mikrofalami.

Literatura

- [1] Abdullah S.A., Lee S.H., Cho I.K., Li Q.X., Jun S., Choi W.: Pasteurization of kava juice using novel continuous flow microwave heating technique. *Food Sci. Biotechnol.*, 2013, 22 (4), 961-966.
- [2] Amaro K.C., Russo G., Fan D.L., Gut J.A.W., Tadini C.C.: Modeling and experimental validation of the time-temperature profile, pectin methylesterase inactivation, and ascorbic acid degradation during the continuous flow microwave-assisted pasteurization of orange juice. *Food Bioprod. Proc.*, 2024, 144, 191-202.
- [3] Atuonwu J.C., Leadley C., Bosman A., Tassou S.A.: High-pressure processing, microwave, ohmic, and conventional thermal pasteurization: Quality aspects and energy economics. *J. Food Process. Eng.*, 2020, 43, #13328.
- [4] Brinley T.A., Dock C.N., Truong V-D., Coronel P., Kumar P., Simunovic J., Sandeep K.P., Cartwright G.D., Swartzel K.R., Jaykus L-A.: Feasibility of utilizing bioindicators for testing microbial inactivation in sweetpotato purees processed with a continuous-flow microwave system. *J. Food Sci.*, 2007, 72 (5), E235-E242.
- [5] Coronel P., Truong V-D., Simunovic J., Sandeep K.P., Cartwright G.D.: Aseptic processing of sweetpotato purees using a continuous flow microwave system. *J. Food Sci.*, 2005, 70 (9), E531-E536.
- [6] Duhan S., Kar A.: Optimization of process parameter combinations for pasteurization of sugarcane (*Saccharum officinarum*) juice using continuous flow microwave system. *Indian J. Agri. Sci.*, 2018, 88(8), 1253-1257.
- [7] Gentry T.S., Roberts J.S.: Design and evaluation of a continuous flow microwave pasteurization system for apple cider. *LWT-Food Sci. Technol.*, 38, 227-238.
- [8] González-Monroy A.D., Rodríguez-Hernández G., Ozuna C., Sosa-Morales M.E.: Microwave-assisted pasteurization of beverages (tamarind and green) and their quality during refrigerated storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2018, 49, 51-57.
- [9] Guzik P., Kulawik P., Zając M., Migdał W.: Microwave applications in the food industry: an overview of recent developments. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2022, 62 (29), 7989-8008.
- [10] Marszałek K., Mitek M., Skąpska S.: Effect of continuous flow microwave and conventional heating on the bioactive compounds, colour, enzymes activity, microbial and sensory quality of strawberry purée. *Food Bioproc. Technol.*, 2015, 8, 1864-1876.
- [11] Marszałek K., Woźniak Ł., Skąpska S., Mitek M.: A comparative study of the quality of strawberry purée preserved by continuous microwave heating and conventional thermal pasteurization during long-term cold storage. *Food Bioproc. Technol.*, 2016, 9, 1100-1112.
- [12] Marszałek K.: Zastosowanie niekonwencjonalnych metod utrwalania żywności (UHP i ogrzewania mikrofalowego) do produktów owocowych. Praca doktorska, SGGW, Warszawa, 2013.
- [13] Melski K.: Rola i postrzeganie kuchni mikrofalowej w gospodarstwach domowych. Exante Wydawnictwo Naukowe, Wrocław, 2023
- [14] Oishi T.K., Gut J.: Modeling time-temperature history and sterilization value of mango puree under conventional and microwave assisted pasteurization. *International J. Food Engineer.*, 2021, 17(9), 737-745.
- [15] Oishi T.K., Pouzada E.V.S., Gut J.A.W.: Experimental validation of a multiphysics model for the microwave-assisted pasteurization of apple juice. *Digital Chem. Engineer.*, 2022, 100053.
- [16] Perek A., Dolata W.: Zastosowanie mikrofal do obróbki cieplnej żywności. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2009, 2, 103-108.

- [17] Piasek A., Kusznierewicz B., Grzybowska I., Malinowska-Pańczyk E., Piekarska A., Azqueta A., Collins A.R., Namieśnik J., Bartoszek A.: The influence of sterilization with EnbioJet® Microwave Flow Pasteurizer on composition and bioactivity of aronia and blue-berried honeysuckle juices. *J. Food Comp. Anal.*, 2011, 24, 880-888.
- [18] Ptak S., Żarski A., Kapuśniak J.: Aspekty technologiczne, ekonomiczne i zdrowotne zastosowania promieniowania mikrofalowego w obróbce żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2020, 27, 1 (122), 47-62.
- [19] Rayman A., Baysal T.: Yield and Quality Effects of Electroporation and Microwave Applications on Carrot Juice Production and Storage. *J. Food Sci.*, 2011, 76 (4), C598-605.
- [20] Sabliov C.M., Boldor D., Coronel P., Sanders T.H.: Continuous microwave processing of peanut beverages. *J. Food Process. Preserv.*, 2008, 32, 935-945.
- [21] Sawale M., Benyathiar P., Coronel P., Rawat A., Simunovic J., Ozadali F., Mishra D.K.: Aseptic microwave sterilization and validation of food containing particles. *Food Bioprod. Process.*, 2024, 143, 28-35.
- [22] Siguemoto É.S., Funcia E.S., Pires M.N., Gut J.A.W.: Modeling of time-temperature history and enzymatic inactivation of cloudy apple juice in continuous flow microwave assisted pasteurization. *Food Bioprod. Process.*, 2018, 111, 45-53.
- [23] Siguemoto É.S., Pires M.N., Funcia E.S., Gut J.A.W.: Evaluation and modeling of a microwave-assisted unit for continuous flow pasteurization of liquid foods: Residence time distribution, time-temperature history, and integrated lethality. *J. Food Process. Eng.*, 2018, 41, #12910.
- [24] Siguemoto É.S., Purgatto E., Hassimotto N.M.A., Gut J.A.W.: Comparative evaluation of flavour and nutritional quality after conventional and microwave-assisted pasteurization of cloudy apple juice. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2019, 111, 853-860.
- [25] Steed L.E., Truong V-D., Simunovic J., Sandeep K.P., Kumar P., Cartwright G.D., Swartzel K.R.: Continuous flow microwave-assisted processing and aseptic packaging of purple-fleshed sweetpotato purees. *J. Food Sci.*, 2008, 73(9), E455-E462.
- [26] Stratakos A.Ch., Delgado-Pando G., Linton M., Patterson M.F., Koidis A.: Industrial scale microwave processing of tomato juice using a novel continuous microwave system. *Food Chem.*, 2016, 190, 622-628.
- [27] Teleken J.T., Dutra A.C., Laurindo J.B., Carciofi B.A.M.: Numerical modeling of heating tomato pulp in continuous flow microwave-assisted thermal processing: Estimation of quality parameters. *J. Food Process. Eng.*, 2023, 46, #14216.
- [28] Wu Y., Mu R., Li G., Li M., Lv W.: Research progress in fluid and semifluid microwave heating technology in food processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2022, 21, 3436-3454.

CONTINUOUS FLOW MICROWAVE PASTEURIZATION OF FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTS

S u m m a r y

Background. Microwave heating is one of the methods used during food processing, understood in a broad sense, which attracts the greatest interest in Europe and North America. This paper presents the principle of microwave radiation and its application in the food industry. The use and impact of flow microwave pasteurization on the quality of fruit and vegetable products, considered in terms of the most important quality characteristics, i.e. microbiological stability, enzymatic activity, basic physicochemical

characteristics, color, the content of the most important groups of bioactive compounds and antioxidant activity, were discussed.

Results and conclusions. Flow microwave pasteurization is used to preserve liquid and semi-liquid products such as purees, juices, beverages and soups. The right combination of parameters determines the effective inactivation of microorganisms and enzymes. The method does not significantly alter pH, titratable acidity or total soluble solids. The literature indicates that microwave pasteurization has a varying effect on the degree of color change, depending on parameters used and a food matrix. In most cases, it allows for the better retention of bioactive components compared to traditional pasteurization due to shorter high temperature exposure time. The study shows the potential for an increase in the overall content of polyphenolic compounds in the case of microwave-preserved products containing raw material tissue. Continuous flow microwave pasteurization is an unconventional preservation technique in the fruit and vegetable industry, which has been thriving in recent years. Due to the economic advantages of the process and the potentially higher quality of resulting products compared to conventional preservation methods, microwave pasteurization is gaining popularity.

Keywords: flow microwave pasteurization, unconventional preservation methods, bioactive compounds, enzymatic activity, antioxidant activity ☒

PIOTR LALOWSKI, MARCIN KRUK, MUHAMMAD SALMAN,
MONIKA TRZĄSKOWSKA

PREBIOTIC PROPERTIES OF BREWER'S SPENT GRAIN – LITERATURE REVIEW

S u m m a r y

Background. Brewer's spent grain (BSG) is a by-product of beer production, constituting approx. 85 % of all generated by-products in the brewing industry, primarily utilized for livestock feed. It is characterized by high levels of fiber (40 ÷ 60 %), protein (19 ÷ 30 %), and fat (10 %). The protein occurring in BSG contains all amino acids, including exogenous ones, which are not synthesized by the human body.

Results and conclusions. Brewer's spent grain fiber mainly comprises cellulose, hemicellulose and lignin. Due to various fiber fractions, including arabinoxylan (AXs), it is suspected to possess the ability to modulate the human gut microbiota. *In vitro* studies conducted so far have demonstrated that BSG and extracted AXs fractions stimulate the growth of health-promoting bacteria such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, however, they also have the capacity to stimulate bacteria of the *Enterobacteriaceae* family. Moreover, under the influence of brewer's spent grain, the abundance of *Bacteroides* and *Firmicutes* bacteria decreases, while the abundance of *Actinobacteria* increases. Additionally, it has been proven in each of the studies that the addition of BSG stimulates the synthesis of short-chain fatty acids, including propionic acid and acetic acid, with acetic acid being the most prominently affected. Brewer's spent grain may enhance the scavenging of free radicals due to the presence of phenolic compounds and increase the antioxidant activity of food. Further research, including studies utilizing a dynamic *in vitro* digestive system and *in vivo* investigations, is necessary to confirm the beneficial impact of BSG on human health.

Keywords: prebiotic properties, microbiota, fiber, arabinoxylan, short-chain fatty acids

Introduction

For humans to sustain themselves, food is required to be produced, processed and consumed. Such operations involve the generation of by-products, and this frequently ends up in the waste stream. Also, every year, about 1.3 billion tons of food go to

*Inż. P. Lalowski ORCID: 0009-0002-6982-1491 mgr. inż. M. Kruk ORCID: 0000-0002-9133-0122; mgr. M. Salman; dr hab. prof. SGGW. M. Trzaskowska ORCID: 0000-0002-9419-463X; Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa.
Kontakt: email: marcin_kruk@sggw.edu.pl*

waste along the whole food production value chain due to final consumption, retail chain, industrial processing and agricultural operations [22]. Approximately 630 million tons of food go to waste in low-income countries mainly through losses of pre- and post-harvest, while over 670 million tons of food are discarded as waste from industrial processing and consumption [1].

Brewer's spent grain (BSG) stands as the primary brewing industry's by-product, accounting for approximately 85 % of the total generated by-products. The yearly BSG production in Europe, measured based on dry matter, was estimated in 2007 to be around 3.5 million metric tons. BSG boasts a rich composition, comprising lignin (also around 28 %), non-cellulosic polysaccharides (approximately 28 %) and cellulose (about 17%). Additionally, it contains significant quantities of polyphenols ($0.7 \div 2.0$ g / 100 g dry material) [26]. Because all bioactive compounds remain in the BSG during the brewing process, it is rich in minerals, vitamins, polyphenols, proteins and fiber. [15]. The BSG extracts support indirectly or directly the activities of anti-hypertensive, anti-microbial, anti-mutagenic and antioxidant capacity [5].

One of the ways to lessen biological waste is to utilize by-products like BSG as an additive to food. Various food processing techniques have been used to maximize BSG's nutritional potential. Moreover, the BSG food applications are in line with consumer desire for wholesome, plant-based food substitutes. With the right processing and bioprocessing techniques, the high nutrient content of BSG, which includes various forms of proteins, sugars, hemicelluloses and polysaccharides can be transformed into a variety of beneficial nutraceuticals and food for consumption by humans [22].

A biological nutrient group known as prebiotics undergo degradation by microorganisms within the gastrointestinal tract (GIT), notably by bacteria from the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* genus. When prebiotics are consumed, either as supplements or as an ingredient of food, the microbiota in the colon breaks them down and metabolizes to short-chain fatty acids (SCFAs). The SCFAs are not only released into the colon, but they also are absorbed into the bloodstream. Among the extensively studied prebiotics in terms of their impact on human health are galactooligosaccharides (GOS) and fructooligosaccharides (FOS). The qualification of a compound as a prebiotic is closely tied to its dietary fiber content [4]. However, other substances express prebiotic properties, for example, some polyphenols support the growth of beneficial bacteria [29].

Therefore, BSG holds promise as a natural carrier of prebiotics due to its rich composition. It contains polysaccharides and polyphenols that can fuel the growth of beneficial gut bacteria. Incorporating BSG into food products can introduce these prebiotic compounds, enhancing nutritional value and promoting gut health. This sustainable approach can reduce food waste, aligning with circular economy principles. However, successful integration requires addressing taste, texture and consumer ac-

ceptance through innovative food processing techniques. The use of BSG as a prebiotic carrier in food products not only supports gut health, but also advances sustainable food practices by repurposing a significant industry by-product [4].

The levels of polysaccharides and polyphenols suggest that BSG may have beneficial effects on gut health by promoting beneficial bacteria, supporting gut barrier integrity and potentially modulating microbial populations. However, extensive research is required to understand BSG's precise mechanisms on the gut microbiota and its overall impact on human health [11]. Therefore, the review aimed to search and analyze available data on the prebiotic properties of brewer's grain and the possibility of using it as a functional food ingredient.

Methodology

Sections “Composition of the spent brewery grains” and “Utilization of spent brewery grains in food technology” of the review are based on the standard data search strategy. Scopus, Web of Science, PubMed and Google Scholar databases were used. For the section “Impact on the gut microbiota”, the strategy with boolean operators was applied. The search began by finding primary research in electronic databases of scientific articles included in the protocols. The authors selected the studies using the inclusion and exclusion criteria based on titles, abstracts and full texts of articles. Only the papers that concerned the reaction of the microbiome to BSG supplementation or fiber fractions isolated from it were taken into account. Other studies in which gut microbiota were not the subject of a study were not included. Review works were also not included. The following words were used for the search: spent brewer* grain* AND microbiota AND prebiotic. The search was conducted on January 5, 2024. The word searching was adjusted to each database separately. Article titles and abstracts were reviewed for duplication across search engines. Finally, five articles were selected.

Results and discussion

Composition of the spent brewery grains

Fiber

The fiber fractions in BSG are hemicellulose, cellulose, lignin and a few other groups of chemicals, e.g. a fraction of glucans. The fiber content in BSG is 40 ÷ 60 % of dry matter. The content depends on the type of malt used and the technological parameters of the mashing process [14, 17].

Hemicellulose constitutes an essential part of spent grain fiber and can reach up to 40 % of dry matter [7]. It consists mainly of polysaccharide chains where sugar residues, mainly xylose, are linked by β -(1→4) bonds, with substitutes such as arabinan groups. These polysaccharides constitute arabinoxylans, which are the main fraction of

hemicelluloses and are the largest selective fraction of dietary fiber in BSG. The detailed structure of AXs consists of a linear β -(1 \rightarrow 4)-linked xylan skeleton to which α -1-arabinofuranose units are attached as side residues via α -(1 \rightarrow 3) and/or α -(1 \rightarrow 2) [29]. Arabinoxylans from BSG have a higher ratio of arabinose to xylose in their structure. This is due to more arabinose side chains than in the wheat AXs. Additionally, BSG contains mainly insoluble arabinoxylans originating from cell walls and bran. This is the mashing result, where most of the AXs soluble passes into the beer wort [25]. The content of cellulose in spent grain ranges from 12 \div 25 % of dry matter. It includes long polysaccharide chains composed exclusively of glucose monomers connected by β -(1 \rightarrow 4) bonds and is an insoluble fraction of BSG fiber [17, 27]. While lignin constitutes approximately 10 \div 25 % of the dry matter of BSG [2] and is classified as an insoluble non-carbohydrate fraction of dietary fiber [9]. Lignin is a complex, amorphous, three-dimensional, long-chain, aromatic polymer of high molecular weight, consisting of phenylpropanes, methoxy groups and non-carbohydrate polyphenolic substances linked by ether bonds [3, 23]. Moreover, BSG contains other fiber fractions, although their content is lower. These fractions include (1-3,1-4)- β -d-glucan. Monosaccharides, such as xylose, glucose, and arabinose, as well as trace amounts of rhamnose and galactose, are also present in the grain [14, 17]. The total fiber found in BSG is called lignocellulose and includes all the components discussed above except for monosaccharides [14].

Proteins

Proteins constitute approximately 19 \div 30 % of the dry weight of BSG, and the most abundant are hordeins (prolamins), glutelins, globulins and albumins. These proteins function as storage proteins in barley seeds [14]. During the production of malt and mash, these proteins are degraded into smaller peptides and free amino acids by proteolytic enzymes [8, 9]. In terms of amino acid composition (Table 1), BSG protein is rich in glutamine/glutamic acid, valine and leucine, while the amino acid content of cysteine and methionine is low [9, 28]. Amino acid composition in BSG depends on the type of malt used and technological and storage conditions [14].

Lipids

Lipids constitute approximately 10 % of the dry matter of BSG [19]. The dominant lipids are triglycerides, which include about 65 % of total lipids, and free fatty acids, which account for about 20 % of total lipids [10, 21]. The main fatty acids in BSG are linoleic, palmitic and oleic acids. BSG also contains monoglycerides and diglycerides (10 % of total lipids) [21]. Importantly, BSG contains steroid compounds, including phytosterols, which are present in significant amounts in BSG (approx. 5 % of total lipids). The most abundant sterols are free and conjugated variants [10, 21].

The high content of phytosterols is important for health and nutritional reasons in this by-product [21].

Table 1. Amino acids composition of spent brewer's grains protein
Tabela 1. Zawartość aminokwasów w białku młóta browarnianego

Amino acids Aminokwasy	g/100 g	
	Waters et al. 2012 [28]	Connolly et al. 2013 [9]
Alanine / Alanina	4.1	4.3
Arginine / Arginina	4.5	6.0
Asparagine / Asparagina	1.5	6.6
Aspartic acid / Kwas asparaginowy	4.8	-
Cysteine / Cysteina	-	1.4
Glutamic acid/ glutamine Kwas glutaminowy/ glutamina	16.6	24.7
Glycine / Glicyna	1.7	3.8
Histidine / Histrydyna	26.2	3.6
Isoleucine* / Izoleucyna	3.3	4.2
Leucine* / Leucyna	6.1	7.2
Lysine* / Lizyna	14.3	3.2
Methionine* / Metionina	-	1.4
Phenylalanine* / Fenyloalanina	4.6	6.2
Serine / Seryna	3.8	9.7
Threonine* / Treonina	0.7	4.1
Tryptophan* / Tryptofan	0.1	-
Threonine / Treonina	-	3.2
Tyrosine / Tyrozyna	2.6	3.5
Valine* / Valina	4.6	6.0

Utilization of spent brewery grains in food technology

Until now, BSG has not been extensively utilized in food technology. However, several studies were conducted to analyze the impact of adding BSG on the organoleptic and sensory characteristics of bakery and flour-based products. These studies encompassed the production of bread, breadsticks, dough and pasta.

In one particular study, authors investigated the effect of adding 5 % and 10 % BSG on the sensory properties of bread, breadsticks and pizza dough. Control samples

consisted of traditional recipes with a low amount of fiber. The study observed a decreased specific volume of products prepared with the addition of BSG, attributed to reduced extensibility and weakening of the gluten connections. The addition of BSG led to a significant change in color intensity, where the brightness parameter (L^*) decreased substantially with an increasing amount of brewer's spent grain. BSG addition also affected the parameters (a^*) and (b^*). The addition of BSG hurt the sensory characteristics of the samples, limiting their acceptability [2].

Ktenioudaki et al. [16] realized the study focused on the effect of 15 %, 25 % and 35 % addition of BSG on the nutritional properties of bread sticks.. It was demonstrated that the addition of BSG significantly increased the protein content in the product, which was 14.3 % for the control sample and 18.4 % for the sample with 35 % BSG. The fiber content also significantly increased, i.e. 6 % for the control sample and 27 % for the sample with 35 % BSG. Similarly to the previously mentioned study, all color parameters underwent changes. The volume of the baked goods decreased, and their hardness was reduced.

Neylon et al. [20] analyzed the impact of BSG on the quality of pasta, a weakening of gluten properties was again demonstrated compared to the traditional control sample. However, these properties were more favorable than those observed in whole-grain pasta samples, which are currently becoming increasingly popular. It was demonstrated that pasta with the addition of BSG exhibited higher fiber content, lower glycaemic index, increased strength and firmness compared to the control sample.

Impact on the gut microbiota

Five articles examining the impact of BSG on the human gut microbiota through the utilization of donor faecal samples were identified. All studies were conducted *in vitro*, employing BSG and arabinoxylan extracts sourced from BSG. The characteristics of its main results are presented in Table 2.

In the study carried out by Bonifácio-Lopes et al. [5], BSG subjected to extraction using Solid-Liquid Extraction (SLE) and Organic Hydro-Solvent Extraction (OHE) methods were employed, followed by enzymatic digestion utilizing enzymes representative of those present in the human gastrointestinal tract. Microbiome content characteristics were obtained using Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR method). The obtained outcomes were compared with the growth of the analyzing group of bacteria on a negative control representing the MRS microbial medium and a positive control consisting of MRS medium supplemented with fructooligosaccharides (FOS). The study demonstrated that extracts from BSG stimulated the growth of bacteria belonging to the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*, with growth comparable to the positive control containing FOS. Regarding *Bacteroides spp.*, a $22 \div 36$ % increase in bacterial abundance was observed within the first 12

Table 2. Characteristics of studies included in the analysis of the impact of spent brewery grains on microbiota composition and SCFA levels change

Tabela 2. Charakterystyka badań włączonych do analizy wpływu młóta browarnianego na zmiany składu mikroflory i stężenia SCFA

Author and year of the publication / Autor oraz rok publikacji	Results / Wyniki
Bonifácio-Lopes et al. [5]	↑ <i>Lactobacillus</i> spp. ↑ <i>Bifidobacterium</i> spp. ↑ <i>Enterococcus</i> spp. ↓ <i>Firmicutes</i> ↓ <i>Bacteroidetes</i> ↓ <i>Bacteroides</i> spp. ↓ <i>Clostridium leptum</i>
	↑ SCFA levels ↑ Phenolic compounds levels
Lynch et al. [18]	↑ <i>Lactobacillus</i> spp. ↑ <i>Bifidobacterium</i> spp. ↑ <i>Actinobacteria</i> ↑ <i>Bacteroides</i> spp. ↑ <i>Escherichia – Shigella</i> ↓ <i>Bacteroidetes</i> spp.
	↑ SCFA levels
Calvete-Torre et al. [6]	↑ <i>Parabacteroides</i> spp. ↑ <i>Phascolarctobacterium</i> spp. ↑ <i>Escherichia Shigella</i> ↑ <i>Coprococcus</i> spp. ↑ <i>Collinsella</i> spp. ↑ <i>Bifidobacterium</i> spp. ↑ <i>Clostridium</i> spp. ↑ <i>Dorea</i> spp. ↑ <i>Eubacterium hallii</i> ↑ <i>Parasuterella</i> spp.
	↑ SCFA levels
Gómez et al. [13]	↑ <i>Lactobacillus</i> spp. ↑ <i>Bifidobacterium</i> spp. ↑ <i>Enterococcus</i> spp. ↑ <i>Bacteroides</i> spp. ↑ <i>Prevotella</i> spp. ↓ <i>Clostridium histolyticum</i>
	↑ SCFA levels
Reis et al. [24]	↑ <i>Bifidobacterium</i> spp. ↑ <i>Bacteroides</i> spp. ↑ <i>Prevotella</i> spp.
	↑ SCFA levels

hours, followed by a significant reduction at 24 and 48 hours compared to the negative control. Similar results were observed for *Clostridium leptum*, which exhibited an initial increase in abundance after 12 hours of incubation, followed by a subsequent decrease. Incubation with BSG extract led to an overall decrease in the abundance of bacteria from the *Bacteroidetes* and *Firmicutes* phyla. The *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio increased by 15 ÷ 22 % during the initial 12 hours of incubation, followed by a subsequent decline, but still maintaining a ratio >1.0. During the incubation, an increase in the synthesis of short-chain fatty acids (SCFAs) was observed, although the growth was lower than in the control sample with FOS. The most pronounced stimulation of synthesis was demonstrated for propionic, acetic and succinic acids. An in-

crease in the synthesis of butyric acid was also observed, although this result did not reach statistical significance. The study also revealed an elevation in the total content of phenolic compounds, resulting in an enhanced antioxidant activity during *in vitro* digestion simulation [5].

In the study conducted by Lynch et al [18], experimental material was prepared from BSG by extracting arabinoxylans (AXs) through a process involving saccharification and fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* F10. Six different extract variants were prepared by employing various extraction parameters. Additionally, untreated BSG without modification and commercial AXs were analyzed as control samples. Before scrutinising the microbiome changes, the samples underwent *in vitro* digestion simulating enzymatic conditions present in the stomach and small intestine. Microbiome changes were analyzed using faecal samples from six healthy donors. After fermentation, genetic material was extracted from the samples and subsequently subjected to 16S sequencing. Fermentation of BSG without modification resulted in a significant tenfold decrease in the abundance of *Bacteroidetes* bacteria and a twofold increase in *Lactobacillus* and *Actinobacteria* bacteria. A similar decrease in the abundance of *Bacteroidetes* bacteria was observed in all extract samples, but not in the commercial AXs. Most extract samples stimulated the growth of *Lactobacillus* bacteria. BSG slightly stimulated the growth of *Bifidobacterium* bacteria, although this stimulation was greater in the case of extract analyses. All samples also stimulated the growth of *Bacteroides* bacteria, as well as *Escherichia - Shigella* bacteria belonging to the *Proteobacteria* phylum. The majority of analyzed samples, including BSG and commercial AXs, stimulated the synthesis of propionic acid, acetic acid and total SCFAs. An increased synthesis of butyric acid was demonstrated only for commercial AXs. For all analyzed samples, a decreased synthesis of isovaleric acid, isobutyric acid and total branched-chain fatty acids (BCFA) was observed. Only BSG stimulated the synthesis of valeric acid [18].

Calvete-Torre et al. [6] used BSG samples without modification and extracts of AXs derived from them. The samples underwent *in vitro* digestion before faecal fermentation. Faecal samples from three healthy donors and three donors with Crohn's disease (CD) were used in the experiments. Microbiome changes were analyzed using the 16S sequencing method. The authors demonstrated that the majority of analyzed samples significantly stimulated the growth of bacteria from the *Escherichia-Shigella* genera in microbiota derived from healthy donors, while bacteria from the *Clostridium* genus were strongly stimulated in the microbiota of CD's patients. Bacteria from the *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Parasutterella* and *Dorea* genera increased in abundance in the microbiota of healthy individuals only after fermentation with one of the extract samples (AS-AX 4). After the fermentation of faecal samples from healthy individuals with the addition of the analyzed samples, bacteria from the *Caprococcus*,

Lachnospirillum and *Bilophila* genera also experienced an increased growth. The fermentation of faecal samples from patients with CD with the addition of the analyzed samples resulted in an increased abundance of bacteria from the *Senegalimassilia*, *Collinsella*, *Phascolarctobacterium* and *Parabacteroides* genera. Regarding the impact of BSG samples on the modulation of gut microbiota, a negative correlation was observed in the study between the abundance of *Bifidobacterium* and *Escherichia-Shigella* bacteria in samples from both healthy and CD's patients. The fermentation of faecal samples with BSG from healthy donors showed a positive correlation between *Parasutterella*, *Bifidobacterium* and *Dorea*, and a negative correlation between *Bilophila* and *Eubacterium hallii*. In the case of BSG samples fermented with faecal samples from patients with CD, weaker associations were observed between health-promoting bacteria, which may be related to existing dysbiosis. In the microbiota isolated from healthy individuals, there was an increase in the commensal bacterial groups present in the eubiotic microbiota type, while no such change was observed in the dysbiotic microbiota obtained from CD's patients. It is suspected that additional supplementation in these individuals with probiotic strains could complement a potential synbiotic therapy to restore intestinal eubiosis in these individuals. The synthesis of all analyzed SCFAs was significantly higher after fermentation with samples from healthy donors compared to samples from patients with CD. However, no significant differences were observed in the stimulation of SCFAs synthesis between BSG and its extracts [6].

Gómez et al. [13] used BSG subjected to the extraction process of AXs in their study. The study did not analyze unaltered BSG. To analyze changes in the microbiota, faecal samples were obtained from three elderly healthy donors (age > 60 years old). Changes in the bacterial population of faecal samples were analyzed using the Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) method and probes targeting 16S rRNA. The control sample consisted of a medium without an added carbon source. The fermentation of samples containing AXs extracted from BSG resulted in a significant increase in bacteria from the *Lactobacillus/Enterococcus*, *Bifidobacterium* and *Bacteroides/Prevotella* genera. The total bacterial count also increased. The abundance of *Clostridium histolyticum* bacteria decreased during incubation compared to the control sample. These changes occurred after seven hours of fermentation, intensified with prolonged incubation, and were similar to the effects observed for FOS. Regarding the results concerning changes in SCFAs levels during 45-hour incubation, compared to the control sample, the content of acetic acid and the total SCFAs increased almost threefold, the content of propionic acid increased over twofold, and the content of butyric acid increased over threefold [13].

Reis et al. [24] employed two AXs extracts from BSG, prepared using ultrasonic extraction (AX1) and alkaline extraction (AX2), for their research. Faecal samples were obtained from three healthy donors, and the abundance of the analyzed bacteria

was assessed using an RT-PCR method. In the analysis of changes occurring in the faecal samples from the first donor with the addition of the AX1 sample, there was an increase in total bacteria and *Bacteroides/Prevotella*. However, there was no increase in the abundance of *Bifidobacterium*. On the other hand, the application of the AX2 sample led to an increase in *Bifidobacterium*, *Bacteroides/Prevotella* and total bacterial count. This increase was higher than in the control samples and those with the addition of FOS. In the faecal samples from the second donor, after the application of both extract variants, there was an increase in the abundance of *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium/Eubacterium* and total bacterial count. However, in the case of the AX2 sample, the increase was stronger than in the case of the AX1 sample. The faecal samples from the third individual showed the highest increase in all analyzed bacteria, especially *Bifidobacterium*, with the AX2 sample resulting in the most substantial increase in bacterial abundance. Both variants of the samples significantly increased the synthesis of SCFA, but the AX1 sample exhibited the strongest effect [24].

Conclusions

Brewer's spent grain is a post-production raw material with high nutritional value. High protein and fiber content can exhibit an important modulatory effect on the intestinal microbiota. The fiber present in BSG is composed of multiple fractions that can modulate the growth of a wide range of microorganisms belonging to different families and genera. A valuable fiber fraction appears to be arabinoxylan, which can enhance the prebiotic effect of the analysed material.

Studies indicate that brewer's spent grain can influence human gut microbiota. Consistent findings reveal that BSG promotes the growth of beneficial *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species bacteria, potentially demonstrating health-promoting properties. However, brewer's spent grain also stimulates the growth of many other groups of bacteria including *Dorea*, *Coprococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella* species, and particularly the *Enterobacteriaceae* family. All these groups of bacteria are present in adequate amounts in the intestinal microbiota of healthy individuals. An unbeneficial observation from the study may be a significant increase in the *Enterobacteriaceae* bacteria family. It may be due to methodological issues and flaws in the *in vitro* methods or the composition of the SBG present in the study by Calvete-Torre et al [6]. However, BSG is identified as a potential prebiotic by-product. Although the current research focuses on faecal fermentation under static *in vitro* conditions, further investigations using dynamic digestive systems and *in vivo* studies are essential to confirm BSG's impact on human microbiota and health.

Funding

This article was funded as part of the 1st place award at the 3rd National Student and Doctoral Conference "Food, Nutrition, Market. Innovations in Science and Practice" organised by the Human Nutrition Science Club and the Institute of Human Nutrition Sciences of the Warsaw University of Life Sciences.

References

- [1] Amicarelli V., Bux C.: Food waste in Italian households during the Covid-19 pandemic: a self-reporting approach. *Food Security*, 2021, 13(1), 25-37.
- [2] Amoriello T., Mellara F., Galli V., Amoriello M., Ciccoritti R.: Technological Properties and Consumer Acceptability of Bakery Products Enriched with Brewers' Spent Grains. *Foods*, 2020, 9(10), #1492.
- [3] Anwar Z., Gulfraz M., Irshad M.: Agro-Industrial Lignocellulosic Biomass a Key to Unlock the Future Bio-Energy: A Brief Review. *J. Rad. Res. Appl. Sci.*, 2014, 7, 163-173.
- [4] Bamigbade G.B., Subhash A.J., Kamal-Eldin A., Nyström L., Ayyash M.: An updated review on prebiotics: insights on potentials of food seeds waste as source of potential prebiotics. *Molecules*, 2022, 27(18), #5947.
- [5] Bonifácio-Lopes T., Catarino M.D., Vilas-Boas A.A., Ribeiro T.B., Campos D.A., Teixeira J.A., Pintado M.: Impact of Circular Brewer's Spent Grain Flour after In Vitro Gastrointestinal Digestion on Human Gut Microbiota. *Foods*, 2022, 11(15), #2279.
- [6] Calvete-Torre I., Sabater C., Montilla A., Moreno F.J., Riestra S., Margolles A., Ruiz L.: Physico-chemical characterization and microbiota modulatory potential of brewer's spent grain and arabinoxylan-derived fractions: A valorization study. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2023, 185, #115107.
- [7] Chetrariu A., Dabija A.: Spent Grain: A Functional Ingredient for Food Applications. *Foods*, 2023, 12, #1533.
- [8] Connolly A., Cermeño M., Crowley D., O'Callaghan Y., O'Brien N.M., FitzGerald R.J.: Characterisation of the in Vitro Bioactive Properties of Alkaline and Enzyme Extracted Brewers' Spent Grain Protein Hydrolysates. *Food Res. Int.*, 2019, 121, 524–532.
- [9] Connolly A., Piggott C.O., FitzGerald R.J.: Characterisation of Protein-Rich Isolates and Antioxidative Phenolic Extracts from Pale and Black Brewers' Spent Grain. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2013, 48, 1670-1681.
- [10] del Río J.C., Prinsen P., Gutiérrez A.: Chemical Composition of Lipids in Brewer's Spent Grain: A Promising Source of Valuable Phytochemicals. *J. Cereal Sci.*, 2013, 58, 248–254.
- [11] Ferreira V. C., Barroso T. L.C.T., Castro L.E.N., da Rosa R.G., de Siqueira Oliveira L.: An overview of prebiotics and their applications in the food industry. *Eur. Food Res. Technol.*, 2023, 249(11), 2957-2976.
- [12] George N., Andersson A.A.M., Andersson R., Kamal-Eldin A.: Lignin Is the Main Determinant of Total Dietary Fiber Differences between Date Fruit (*Phoenix Dactylifera L.*) Varieties. *NFS J.* 2020, 21, 16-21.
- [13] Gómez B., Míguez B., Veiga A., Parajó J.C., Alonso J.L.: Production, Purification, and in Vitro Evaluation of the Prebiotic Potential of Arabinoxylooligosaccharides from Brewer's Spent Grain. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 2015, 63(38), 8429-8438.

- [14] Ikram S., Huang L., Zhang H., Wang J., Yin M.: Composition and Nutrient Value Proposition of Brewers Spent Grain. *J. Food Sci.*, 2017, 82, 2232-2242.
- [15] Inzunza-Soto M., Avena-Bustillos R.J., Thai S., Roman V., Whitehill L., Tam C., ... McHugh T.H.: Health Benefits of High Protein and Dietary Fiber Dry-Fractioned Brewery Spent Grain Fines. *ACS Food Sci. Technol.*, 2022, 2(12), 1870-1878.
- [16] Ktenioudaki A., Chaurin V., Reis S.F., Gallagher E.: Brewer's spent grain as a functional ingredient for breadsticks. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2012, 47(8), 1765-1771.
- [17] Lynch K.M., Steffen E.J., Arendt E.K.: Brewers' Spent Grain: A Review with an Emphasis on Food and Health. *J. Inst. Brew.*, 2016, 122, 553-568.
- [18] Lynch K.M., Strain C.R., Johnson C., Patangia D., Stanton C., Koc F., ... Arendt E.K.: Extraction and characterisation of arabinoxylan from brewers spent grain and investigation of microbiome modulation potential. *Eur. J. Nutr.*, 2021, 60(8), 4393-4411.
- [19] Mussatto S.I., Dragone G., Roberto I.C.: Brewers' Spent Grain: Generation, Characteristics and Potential Applications. *J. Cereal Sci.*, 2006, 43, 1-14.
- [20] Neylon E., Arendt E.K., Zannini E., Sahin A.W.: Fundamental study of the application of brewers spent grain and fermented brewers spent grain on the quality of pasta. *Food Struct.*, 2021, 30, #100225.
- [21] Niemi P., Tamminen T., Smeds A., Viljanen K., Ohra-aho T., Holopainen-Mantila U., Faulds C.B., Poutanen K., Buchert J.: Characterization of Lipids and Lignans in Brewer's Spent Grain and Its Enzymatically Extracted Fraction. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60, 9910-9917.
- [22] Oyediji A.B., Wu J.: Food-based uses of brewers spent grains: Current applications and future possibilities. *Food Biosci.*, 2023, #102774.
- [23] Ponnusamy V.K., Nguyen D.D., Dharmaraja J., Shobana S., Banu J.R., Saratale R.G., Chang S.W., Kumar G.: A Review on Lignin Structure, Pretreatments, Fermentation Reactions and Biorefinery Potential. *Bioresour. Technol.*, 2019, 271, 462-472.
- [24] Reis S.F., Gullón B., Gullón P., Ferreira S., Maia C.J., Alonso J.L., ... Abu-Ghannam N.: Evaluation of the prebiotic potential of arabinoxylans from brewer's spent grain. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, 98(22), 9365-9373.
- [25] Schupfer E., Pak S.C., Wang S., Micalos P.S., Jeffries T., Ooi S.L., Golombick T., Harris G., El-Omar E.: The Effects and Benefits of Arabinoxylans on Human Gut Microbiota – A Narrative Review. *Food Biosci.*, 2021, 43, #101267.
- [26] Skendi A., Harasym J., Galanakis C.M.: Distillate processing by-products. *Sustainable Recovery and Reutilization of Cereal Processing By-Products*, 2018, 189.
- [27] Sun J.X., Xu F., Sun X.F., Xiao B., Sun R.C.: Physico-Chemical and Thermal Characterization of Cellulose from Barley Straw. *Polym. Degrad. Stabil.*, 2005, 88, 521-531.
- [28] Waters D.M., Jacob F., Titze J., Arendt E.K., Zannini E.: Fibre, Protein and Mineral Fortification of Wheat Bread through Milled and Fermented Brewer's Spent Grain Enrichment. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, 235, 767-778.
- [29] Yang Q., Liang Q., Balakrishnan B., Belobrajdic D.P., Feng Q.-J., Zhang W.: Role of Dietary Nutrients in the Modulation of Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*, 2020, 12(2), #381.

WŁAŚCIWOŚCI PREBIOTYCZNE MŁÓTA BROWARNIANEGO – PRZEGLĄD LITERATURY

Streszczenie

Wprowadzenie. Młóto browarniane jest produktem ubocznym z produkcji piwa stanowiącym około 85 % wszystkich generowanych odpadów poprodukcyjnych w przemyśle browarniczym, dotychczas wykorzystywanym do karmienia bydła. Cechuje się dużą zawartością błonnika (40 ÷ 60 %), białka (19 ÷ 30 %) i tłuszczu (10 %). Białko obecne w młócie browarnianym zawiera wszystkie aminokwasy, w tym egzogenne, które nie są syntetyzowane przez organizm człowieka.

Wyniki i wnioski. Błonnik młóta browarnianego składa się głównie z celulozy, hemicelulozy oraz ligniny. Ze względu na poszczególne frakcje błonnika, w tym arabinoksylany podejrzewa się, że wykazuje zdolność do modulacji mikrobioty jelitowej człowieka. W dotychczas przeprowadzonych badaniach *in vitro* dowiedziono, że młóto browarniane i frakcje wyekstrahowanego arabinoksyłanu stymulują wzrost bakterii potencjalnie prozdrowotnych z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, jednakże ma również zdolność do stymulacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Dowiedziono, że pod wpływem młóta browarnianego zmniejsza się liczebność bakterii typu *Firmicutes* oraz *Bacteroidetes*, zaś zwiększa liczebność bakterii z typu *Actinobacteria*. Ponadto, w każdym z badań dowiedziono, że dodatek młóta browarnianego stymuluje syntezę krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, w tym najsilniej kwasu octowego i kwasu propionowego. Młóto browarniane może zwiększać wychwytywanie wolnych rodników przez obecność związków fenolowych i zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej żywności. W celu potwierdzenia korzystnego wpływu młóta browarnianego na zdrowie człowieka konieczne są dalsze badania, w tym z wykorzystaniem dynamicznego układu trawiennego *in vitro* oraz badania *in vivo*.

Słowa kluczowe: właściwości prebiotyczne, mikrobiota, błonnik, arabinoksylany, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe ☒

PIOTR JANISZEWSKI, DARIUSZ LISIAK, KAROL BORZUTA,
EUGENIA GRZEŚKOWIAK, TOMASZ SCHWARZ,
KRZYSZTOF POWAŁOWSKI, BEATA LISIAK, URSZULA SIEKIERKO,
ŁUKASZ SAMARDAKIEWICZ

WPLYW ZASTOSOWANIA DODATKU PSZENŻYTA W ŻYWIENIU TUCZNIKÓW NA CECHY FIZYKOCHEMICZNE ORAZ PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH MIĘSA

Streszczenie

Wprowadzenie. Celem badań było określenie wpływu żywienia tuczników różnymi dawkami pszenżyta na cechy jakościowe oraz profil kwasów tłuszczowych mięsa. Doświadczenie przeprowadzono na 100 tucznikach rasy polskiej białej zwisłouchej w cyklu dwufazowym – grower i finisz. Świnie żywiono mieszanką treściwą złożoną ze śruty pszennej i jęczmiennej oraz dodatkiem pszenżyta w udziale 20 %, 40 % i 60 % w dawce pokarmowej. Grupę kontrolną stanowiło 25 tuczników żywionych bez dodatku pszenżyta. Po uboju wykonano ocenę mięsności tusz i analizę jakości oraz składu kwasów tłuszczowych mięśnia *longissimus lumborum*.

Wyniki i wnioski. Stwierdzono, że dodatek 60 % ziarna pszenżyta w dawce pozwala na obniżenie poziomu SFA w mięsie, wzrost poziomu kwasów jednonienasyconych MUFA oraz obniżenie stosunku kwasów PUFA n-6 do n-3 w porównaniu z grupą kontrolną. Żywienie dodatkiem pszenżyta nie wpłynęło na badane cechy fizykochemiczne i sensoryczne mięsa oraz na umięśnienie i otłuszczenie tusz, a także na skład chemiczny mięśnia *longissimus lumborum*.

Słowa kluczowe: pszenżyto, żywienie, tuczniki, jakość mięsa, kwasy tłuszczowe

Dr P. Janiszewski ORCID: 0000-0003-1763-8548; dr hab. inż., prof. IBPRS-PIB D. Lisiak ORCID: 0000-0002-4634-236X; dr hab. inż., prof. IBPRS-PIB K. Borzuta ORCID: 0000-0002-3083-4052; dr hab. inż., prof. IBPRS-PIB E. Grześkowiak ORCID: 0000-0002-9581-3471, Pracownia Badania Surowców i Produkcji Rzeźnianej, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego – PIB, ul. Głogowska 239 60-111 Poznań; dr hab. inż., prof. URK T. Schwarz ORCID: 0000-0002-3759-7002, Katedra Genetyki, Hodowli i Etologii Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków; mgr inż. K. Powałowski; mgr B. Lisiak; mgr inż. U. Siekierko ORCID: 0000-0002-5614-5546; mgr inż. Ł. Samardakiewicz, Pracownia Badania Surowców i Produkcji Rzeźnianej, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego – PIB, ul. Głogowska 239 60-111 Poznań.

Kontakt: email: piotr.janiszewski@ibprs.pl

Wprowadzenie

W recepturach paszowych dla świń charakterystyczny jest wysoki udział ziarna zbóż jako komponentów o wysokiej zawartości suchej masy (85 ÷ 90 %) i dużej koncentracji energii metabolicznej (14,2 ÷ 16,7 MJ/kg), która w praktyce wnosi do mieszanki paszowej 40 do 85 % energii [22]. W mieszankach pasz treściwych w żywieniu świń wykorzystuje się powszechnie jęczmień, pszenicę, żyto, pszenżyto i kukurydzę. W Polsce struktura wykorzystania zbóż kształtuje się różnie w poszczególnych jego gatunkach. Znaczne ilości ziarna pszenicy przerabia przemysł gorzelniany a owsa – płatkarnie. Natomiast prawie cała produkcja pszenżyta przeznaczana jest na pasze. W skali kraju zapotrzebowanie na pasze zbożowe pokrywane jest ziarnem pszenicy w 21 ÷ 22 %, żyta w 16 ÷ 20 % i jęczmienia w 17 ÷ 18 %. Pozostałe około 45 % przypada na inne zboża paszowe: mieszanki zbożowe (do 29 %), pszenżyto (do 11 %) i kukurydzę (do 5 %). W zasadzie jęczmień, pszenica i pszenżyto charakteryzują się podobnym składem chemicznym i profilem kwasów tłuszczowych z pewnymi różnicami w zawartości niektórych składników, np. zawartość tłuszczu surowego pszenicy i jęczmienia wynosi 21 g/kg s.m., pszenżyta – 15 g/kg s.m.; zawartość włókna surowego odpowiednio: 30, 44 i 20 g/kg s.m.; zawartość białka ogólnego surowego odpowiednio: 159, 119 i 136 g/kg s.m.; zawartość substancji bezazotowych wyciągowych odpowiednio: 769, 792 i 808 g/kg s.m.; stosunek kwasów tłuszczowych PUFA n-6/PUFA n-3 odpowiednio: 10,9:1, 9,7:1 i 8,6:1 [14]. Powyższy skład chemiczny tych zbóż potwierdzają też inne źródła [11]. Według norm żywienia świń [30] ziarno pszenżyta zawiera 12,2 % białka ogólnego (pszenica 11,9 %, jęczmień 11 %), 70,2 % bezaazotowych wyciągowych (pszenica 69,4 %, jęczmień 67,4 %), włókna surowego 2,4 % (pszenica 2,9 %, jęczmień 4,8 %). Zawiera też więcej lizyny niż jęczmień i pszenica oraz ma większy współczynnik strawności białka ogólnego (80 %) od ziarna jęczmienia (70 %). A zatem pszenżyto wyróżnia się mniejszą zawartością tłuszczu i włókna surowego, większą zawartością skrobi i lepszym stosunkiem kwasów nienasyconych z rodziny n-6 / n-3 w porównaniu z ziarnem pszenicy i jęczmienia. Również zawartość aminokwasów egzogennych w tym zbożu jest większa od ziarna jęczmienia, ale mniejsza od ziarna pszenicy [14]. Powyższe dane mogą mieć wpływ na cechy jakościowe mięsa świń żywionych różnym udziałem pszenżyta w dawce pokarmowej, a przede wszystkim na profil kwasów tłuszczowych. Jak wykazali Woods i Fearon [29], istnieje bowiem duża zależność pomiędzy zawartością kwasów tłuszczowych paszy karmionych nią zwierząt monogastrycznych a ich profilem w mięsie.

Istnieją liczne badania na temat wpływu żywienia ziarnem kukurydzy na jakość mięsa, podkreślające jej niekorzystny wpływ na profil kwasów tłuszczowych, a także na konsystencję, trwałość i smak mięsa [1, 15, 30] oraz na cechy sensoryczne szynki surowo dojrzewających [16]. Znany jest także korzystny wpływ na jakość mięsa i profil kwasów tłuszczowych lipidów świń żywionych ziarnem pszenicy, jęczmienia i żyta

hybrydowego [13], nieliczne są natomiast badania na temat wpływu żywienia ziarnem pszenżyta na jakość mięsa wieprzowego [23, 24]. Pszenżyto jest stosunkowo od niedawna stosowane jako komponent pasz dla zwierząt i ciągle jeszcze poddawane badaniom i testom [12]. Szczególnie istotne wydają się być prace hodowlane nad doskonaleniem odmian. W odmianach uprawianych w Polsce uwaga hodowcy powinna być skoncentrowana na plonowaniu. W niektórych krajach zboże to osiąga wydajność plonowania nawet 6 ton z ha, co stanowi dodatkowy atut tego zboża w żywieniu świń. Tuczniaki są zdolne do wykorzystania z pszenżyta składników pokarmowych, a zwłaszcza energii, podobnie jak z kukurydzy czy obłuskanego jęczmienia [12]. Tym bardziej sprawdzenie wpływu tego zboża na jakość i profil kwasów tłuszczowych mięsa staje się zasadne.

Celem badań było określenie wpływu żywienia tuczników różnymi dawkami pszenżyta na cechy jakościowe oraz profil kwasów tłuszczowych mięsa. Problem jest szczególnie ważny w warunkach polskich, gdzie np. w latach 1990 ÷ 2000 areal uprawy tego zboża wynosił 660 tys. ha i był największy na świecie, co zapewniło produkcję około 2 mln ton ziarna, z czego około 1,8 mln ton przeznaczono na skarmianie [12]. Obserwuje się dalsze powiększenie areалу zasiewów pszenżyta w Polsce, który np. w roku 2022 wyniósł aż ok. 1,23 mln ha [27].

Material i metody badań

Doświadczenie przeprowadzono na 100 tucznikach rasy polskiej białej zwiślouchej, których tucz odbywał się w cyklu dwufazowym, tj. grower i finisher. Tucz prowadzono od średniej masy prosiąt ok. 28 ± 5 kg do końcowej masy przedubojowej ok. 110 ± 9 kg. Zwierzęta przetrzymywano w indywidualnych kojcach, gdzie były żywione do woli mieszanką treściwą, zawierającą takie zboża jak: śruta pszenna, śruta jęczmienna i śruta z pszenżyta, którą dodawano w różnych dawkach (tab.1). Doświadczenie prowadzono jednocześnie na czterech grupach zwierząt. Pasze zawierały śrutę pszenną i jęczmienną w proporcji pół na pół, a pasze grup doświadczalnych dodatek śruty z pszenżyta w udziale 20 %, 40 % lub 60 % dawki pokarmowej. W każdej grupie zwierząt żywienie prowadzono taką samą mieszanką paszową w okresie grower i finisher, ale w składzie przypisanym dla każdej z nich. Różnice w żywieniu w tych cyklach obejmowały tylko ilość spożytej mieszanki, którą tuczniaki pobierały do woli.

Średni czas trwania tuczu wynosił ok. $79 \pm 2,4$ dni. Po zakończeniu tuczu zwierzęta przewożono transportem samochodowym ze Stacji Doświadczalnej Instytutu Zootechniki w Chorzelowie do rzeźni w Kasince Wielkiej odległej o 170 km. Po dwugodzinnym wypoczynku w magazynie żywca tuczniaki ubijano, stosując dwuelektrowe oształamianie elektryczne o następujących parametrach: częstotliwość 50 Hz,

Tabela 1. Układ doświadczenia i skład paszy
Table 1. Experimental design and diet ingredients

Wyszczególnienie / Specify	Udział pszenżyta w paszy [%] / Amount of triticale in diet [%]			
	0 – control	20	40	60
Liczba zwierząt / Number of animals	25 pigs	25 pigs	25 pigs	25 pigs
Główne składniki paszy [%] / Main ingredients of complete diets [%]				
Soybean meal / Mączka sojowa	9,4	10,5	11,4	12,0
Barley / Jęczmień	41,5	31,0	20,5	10,0
Wheat / Pszenica	41,5	30,5	20,1	10,0
Triticale / Pszenżyto	-	20	40	60
Soybean oil / Olej sojowy	1,2	1,3	1,3	1,3
Wheat bran / Otręby pszenne	3,7	4,0	4,0	4,0
Phosphate / Fosforan	0,2	0,2	0,2	0,2
Acidifier / Zakwaszacz	0,1	0,1	0,1	0,1
Premix / Premiks	2,4	2,4	2,4	2,4

napięcie 250 V, natężenie 1,4 A, czas aplikacji prądu 7 s. Na ciepłych, wiszących, lewych półtuszach wykonano pomiary mięsności aparatem Ultra-From 300. Po dobowym cyklu wychładzania w temp. ok. 4 °C wycinano do badań laboratoryjnych mięsień *longissimus lumborum* (m.LL). W mięśniu LL badano po 48 h post mortem cechy fizykochemiczne, podstawowy skład chemiczny, profil kwasów tłuszczowych i cechy sensoryczne. W próbach mięsa surowego wykonano następujące pomiary i oznaczenia:

- pH₄₅ i 48h *postmortem* za pomocą pH-metru firmy Sydel z elektrodą sztyletową;
- przewodność elektryczną EC 48h za pomocą konduktometru LF-Star, firmy Malthus GmbH;
- wodochłonność (WHC) metodą Grau i Hamma [7] w modyfikacji Pohja i Niiniwaary [18];
- wyciek naturalny (*drip*) obliczony z różnicy masy próbki około 50 g przed i po 48h przechowywania w temp. 4 °C w workach foliowych;
- barwę za pomocą aparatu Chroma Maters CR 400 Konica Minolta, mierząc parametry L*a*b*;
- zawartość tłuszczu metodą Soxhleta [9];
- zawartość wody [8];
- zawartość białka metodą Kjeldahla, przy użyciu urządzenia firmy Tecator [20];
- zawartość cholesterolu metodą PA/04 [31].

W lipidach surowego mięśnia LL oznaczono profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość cholesterolu. Estry metylowe kwasów tłuszczowych próbek przygotowywano według metody ISO [21]. Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczono metodą

chromatografii gazowej przy użyciu urządzenia firmy Hewlett Packard HP6890, wyposażonego w detektor płomieniowy i kolumnę wysokopolarną z fazą BPX70 o długości 60 m i grubości 0,25 μm . Zawartość kwasów wyrażono w procentach ogólnej ich ilości w próbce. Zawartość cholesterolu oznaczano metodą PA/04 wydanie 7 [31].

Próby mięśnia LL gotowano do momentu uzyskania temperatury 70 °C wewnątrz mięśnia. Ocenę sensoryczną gotowanego mięśnia przeprowadzono w skali 5-punktowej, określając zapach, soczystość, kruchość i smakowitość [3]. Ocenę prowadził 4-osobowy zespół ekspertów o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej.

Wyniki opracowano statystycznie, obliczając wartości średnie i odchylenia SEM oraz wykonując jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA przy wykorzystaniu programu statistica 6.0. Istotność różnic między średnimi określono za pomocą testu Tukeya [28].

Wyniki i dyskusja

Różne dawki żywieniowe pszenżyta nie wpłynęły na masę tuszy, zawartość mięsa oraz grubość słoniny i grubość mięśnia LD (tab.2). Wartości średnie powyższych cech wartości rzeźnej nie różniły się istotnie pomiędzy grupą kontrolną a wszystkimi badanymi grupami doświadczalnymi. Średnia zawartość mięsa w tuszy wszystkich badanych grup tuczników mieściła się w granicach 56 do 57 % i odpowiadała klasie E w systemie klasyfikacji SEUROP [6].

Tabela 2. Cechy tuszy tuczników żywionych różnymi dawkami pszenżyta w paszy

Table 2. Carcass traits of pigs fed different levels of triticale grains in diet

Cechy tuszy / Carcass traits	Udział pszenżyta w paszy [%] / Level of triticale in diet [%]				SEM	p
	0 (A)	20 (B)	40 (C)	60 (D)		
Masa tuszy ciepłej [kg] / Hot carcass weight [kg]	80,01	78,91	77,86	72,89	1,28	0,214
Grubość tłuszczu w punkcie F1 [mm] / Fat thickness in point F1 [mm]	15,32	13,19	13,59	14,38	0,53	0,403
Grubość tłuszczu w punkcie F2 [mm] / Fat thickness in point F2 [mm]	15,83	14,85	14,94	15,44	0,54	0,910
Grubość m. LD w punkcie M2 [mm] / Loin thickness in point M2 [mm]	50,43	49,31	53,34	49,93	0,97	0,510
Zawartość mięsa w tuszy [%] / Lean meat content [%]	55,97	57,00	57,62	56,23	0,35	0,335

Wyniki wskazują, że mięso tuczników żywionych dodatkiem pszenżyta nie różniło się istotnie od grupy kontrolnej w większości badanych cech fizycznych, tj. wodochłonności, wycieku soku mięsnego, jasności barwy, tonów barwy (czerwona, żółta)

oraz przewodności elektrycznej (tab. 3). Kwasowość mięsa okazała się największa tylko w grupie tuczników otrzymujących 60-procentowy dodatek pszenżyta w diecie, zarówno w mięsie ciepłym jak i wychłodzonym. Jednak nie obserwuje się tu zmian jednokierunkowych, gdyż podobną kwasowość mięsa wychłodzonego stwierdzono także w grupie tuczników otrzymujących 20 % pszenżyta w dawce pokarmowej.

Tabela 3. Cechy fizyczne mięśnia *longissimus lumborum* tuczników żywionych różnymi dawkami pszenżyta w paszy

Table 3. Physical traits of *longissimus lumborum* muscle of pigs fed different levels of triticale grains in diet

Cechy fizyczne / Physical traits	Dodatek pszenżyta w paszy [%] / Level of triticale in diet [%]				SEM	p
	0 (A)	20 (B)	40 (C)	60 (D)		
pH _{45'}	6,46	6,50	6,56 ^d	6,34 ^c	0,03	0,025
pH _{48h}	5,65 ^D	5,56	5,65 ^D	5,53 ^{AC}	0,02	0,002
Przewodność elektryczna [mS] / Electrical conductivity [mS]	4,38	3,79	4,08	4,25	0,20	0,764
Wodochłonność [%] / Water absorption [%]	31,84	32,72	32,26	33,86	0,29	0,074
Wyciek [%] / Drip loss [%]	7,01	7,04	6,84	7,18	0,96	0,644
Jasność barwy L / L – colour lightness	52,28	52,73	51,67	52,77	0,34	0,585
Odcień czerwony / Redness	5,34	5,16	5,69	5,33	0,13	0,338
Odcień żółty / Yellowness	-0,40	-0,42	-0,29	-0,50	0,14	0,966

Objaśnienia: Średnie oznaczone różnymi literami są statystycznie istotne (dużymi literami $p \leq 0,01$, małymi literami $p \leq 0,05$)

Explanatory notes: Means marked by differ letters are significant (by uppercase $p \leq 0,01$, by lowercase $p \leq 0,05$)

Badania nie wykazały istotnego wpływu dodatku pszenżyta w dawce pokarmowej tuczników na skład chemiczny mięśnia LL (tab.4). Podstawowy skład chemiczny był podobny w grupie kontrolnej żywionej ziarnem pszenicy i jęczmienia oraz we wszystkich trzech grupach doświadczalnych żywionych dodatkami pszenżyta. Skład ten był typowy dla chudego mięsa wieprzowego i wynosił około 73 % wody, 23,5 % białka oraz 2,3 % tłuszczu.

Badania wykazały jednak, że żywienie dodatkiem pszenżyta wpłynęło na skład kwasów tłuszczowych mięśnia LL (tab. 5). Badany największy dodatek pszenżyta w żywieniu (60 %) wpłynął na obniżenie poziomu nasyconych kwasów tłuszczowych SFA o ok. 1,6 pp, a głównie kwasu stearynowego C18:0, którego poziom obniżył się o ok. 1 pp w porównaniu z pozostałymi badanymi grupami tuczników ($p \leq 0,05$) oraz kwasu arachidonowego C20:0 o 0,04 pp ($p \leq 0,05$).

Tabela 4. Podstawowy skład chemiczny (%) oraz cechy sensoryczne (punkty) mięśnia LL tuczników żywionych różnymi dawkami pszenżyta

Table 4. Basic chemical content (%) and sensory traits (points) of LL muscle of pigs fed different level of triticale grains in diet

Cechy jakości / Quality traits	Dodatek pszenżyta w paszy [%] / Level of triticale in diet [%]				SEM	<i>p</i>
	0 (A)	20 (B)	40 (C)	60 (D)		
Zawartość wody [%] / Water content [%]	72,63	72,87	72,00	73,11	0,14	0,671
Zawartość tłuszczu [%] / Fat content [%]	2,19	2,42	2,26	2,35	0,08	0,722
Zawartość białka [%] / Protein content [%]	23,81	23,34	23,47	23,16	0,13	0,354
Zapach / Smell	4,30	4,30	4,36	4,33	0,03	0,852
Smak / Flavour	4,11	4,15	4,20	4,24	0,04	0,643
Soczystość / Juiciness	4,18	4,16	4,21	4,16	0,05	0,989
Kruchość / Tenderness	4,07	4,03	4,04	4,10	0,05	0,932

Zawartość kwasów tłuszczowych jednonienasyconych MUFA okazała się wyższa o ok. 1,5 pp w mięsie świń żywionych 60-procentowym dodatkiem pszenżyta w diecie niż w mięsie tuczników kontrolnych i otrzymujących mniejszy, 20-procentowy dodatek tego zboża. Natomiast poziom kwasów tłuszczowych PUFA był podobny we wszystkich badanych grupach tuczników ($p \leq 0,079$) z tym, że różnił się statystycznie istotnie poziom kwasów grupy PUFA n-3 w mięsie tuczników żywionych 60-procentowym dodatkiem pszenżyta, który był wyższy w porównaniu z pozostałymi grupami badanych zwierząt ($p \leq 0,01$). Spowodowało to obniżenie stosunku kwasów PUFA n6 / n3 z 11,29 w grupie kontrolnej do 10,19 w grupie z 60-procentowym dodatkiem pszenżyta ($p \leq 0,01$) oraz do 10,62 i 10,42 w grupach o niższym procentowym dodatku pszenżyta ($p \leq 0,01$).

Dodatek pszenżyta w diecie tuczników nie miał wpływu na zawartość cholesterolu, którego poziom wynosił w poszczególnych grupach średnio od 74 do 77 mg/100g tkanki mięśniowej i był wyższy od innych źródeł literaturowych o ok. 20 mg/100g schabu [25].

Dodatek pszenżyta w żywieniu nie wpłynął również na badane cechy sensoryczne mięśnia LL, tj. zapach, smak, soczystość i kruchość (tab.4). Wszystkie te cechy oceniono średnio na 4 do 4,4 punkty w skali pięciopunktowej dla mięsa, zarówno tuczników doświadczalnych jak i kontrolnych.

Wyniki badań wykazały, że stosowane wielkości dodatku pszenżyta w diecie tuczników nie miały wpływu ani na zawartość mięsa w tuszy, ani na grubość słoniny

Tabela 5. Profil kwasów tłuszczowych [%] mięśnia *longissimus lumborum* tuczników żywionych różnymi dawkami pszenżytaTable 5. Fatty acids profile [%] of m. *longissimus lumborum* of pigs fed different triticale doses in diet

Kwasy tłuszczowe / Fatty acids	Dodatek pszenżyta w paszy [%] / Addition triticale grains in diet [%]				SEM	p
	0 (A)	20 (B)	40 (C)	60 (D)		
C12:0	0,06	0,07	0,06	0,06	0,001	0,461
C14:0	1,19	1,18	1,19	1,19	0,01	0,384
C16:0	24,04	24,18	24,33	23,35	0,15	0,107
C16:1	2,09	2,05	2,11	2,23	0,04	0,338
C18:0	14,84 ^d	15,23 ^d	15,37 ^d	13,89 ^{abc}	0,17	0,017
C18:1 trans	0,18	0,17	0,19	0,18	0,01	0,675
C18:1 cis 9	37,36	37,03	37,93	38,54	0,29	0,118
C18:2	12,78	12,97	11,89	13,04	0,17	0,071
C18:3	0,09 ^D	0,10 ^d	0,10 ^d	0,12 ^{Abc}	0,003	0,004
C20:0	0,32 ^d	0,32 ^d	0,32 ^d	0,28 ^{abc}	0,005	0,023
C20:1	1,05	1,04	1,07	1,04	0,01	0,902
C20:2	0,67	0,69	0,63	0,68	0,01	0,191
SFA	40,79 ^d	41,33 ^d	41,48 ^d	39,20 ^{bc}	0,28	0,016
MUFA	43,43 ^d	43,08 ^d	44,16	44,99 ^{ab}	0,25	0,042
PUFA	15,21	15,48	14,29	15,67	0,20	0,079
PUFA n-3	1,22 ^D	1,31	1,23 ^D	1,38 ^{AC}	0,02	0,004
PUFA n-6	13,73	13,93	12,81	14,04	0,18	0,073
n-6/n-3 ratio	11,29 ^{CD}	10,62 ^A	10,42 ^A	10,19 ^A	0,07	0,001
Cholesterol [mg/100g]	74,98	76,70	74,79	73,74	1,11	0,830

Objaśnienia: Średnie oznaczone różnymi literami są statystycznie istotne (dużymi literami $p \leq 0,01$, małymi literami $p \leq 0,05$)

Explanation: Means marked by differ letters are significant (by uppercase $p \leq 0,01$, by lowercase $p \leq 0,05$)

i schabu. Podobne wyniki uzyskali Lisiak i wsp. [13] w badaniach nad dodatkiem żyta hybrydowego w żywieniu, w których tuczniaki wykazały podobny poziom mięsności (ok. 56 ÷ 57%), a także grubości słoniny (ok. 15 ÷ 17 mm) i mięśnia schabu (ok. 53 ÷ 56 mm). Dodatek pszenżyta w żywieniu świń nie miał również wpływu na takie cechy fizyczne badanego mięśnia, jak: wodochłonność, wyciek soku mięsnego, jasność barwy, czerwony i żółty odcień barwy. Tylko pH 45' oraz pH 48 h mięśnia LL świń żywionych 60-procentowym dodatkiem pszenżyta było istotnie niższe od niektórych innych grup tuczników, ale średnia końcowa kwasowość mięsa wszystkich badanych

grup mięsiała się w przedziale pH 5,53 do 5,65 i można ją uznać za optymalną dla tego gatunku surowca [25]. Badania, które Sullivan i wsp. [23] wykonali latem i powtórzyli zimą na tucznikach żywionych 49 dni przed ubojem dodatkiem 40-procentowego oraz 20-procentowego ziarna pszenżyta nie wykazały wpływu tego zboża na końcowe pH mięśnia schabu, jak również na grubość słoniny i zawartość mięsa w tuszy oraz na parametry barwy L^* , a^* , b^* .

Badania wykazały także brak wpływu żywienia pszenżytem na chemiczny skład mięśnia LL. Podstawowy skład chemiczny był podobny do typowego składu chudej wieprzowiny, która dla mięśnia schabu tusz klasy E jest obecnie określana następująco: zawartość wody 72,25 %, zawartość tłuszczu 1,92 %, zawartość białka 22,54 % [26]. Także badania Turyk i wsp. [24] oraz Chapmana i wsp. [5] wykazały podobny skład chemiczny ww. mięśnia tuczników żywionych ziarnem zbóż.

Kryteria wartości odżywczej tłuszczów zwierzęcych sprowadzają się do składu ilościowego i jakościowego kwasów tłuszczowych i obecności innych związków chemicznych związanych metabolicznie i histologicznie z tłuszczami. Dotyczy to przede wszystkim witamin rozpuszczalnych w tłuszczach i cholesterolu [10]. Spośród kwasów tłuszczowych na szczególną uwagę zasługuje kwas linolowy i alfa-linolenowy ponieważ człowiek, jak również zwierzęta, nie są w stanie syntetyzować tych kwasów. U zwierząt monogastrycznych, do których zalicza się świnię, można w największym stopniu oddziaływać na skład tłuszczów poprzez żywienie. Jeżeli w paszy znajdzie się wiele nienasyconych kwasów tłuszczowych to duża część z nich (do 50 %) znajdzie swoje miejsce w tłuszczu tkankowym zwierzęcia.

Wykonane doświadczenie wykazało, że dodatek pszenżyta w żywieniu istotnie wpływa na profil kwasów tłuszczowych mięśnia LL. Udział 60 % pszenżyta w dawce pokarmowej powoduje istotne obniżenie poziomu SFA w mięsie, podwyższenie poziomu kwasów jednonienasyconych MUFA oraz zwiększenie poziomu PUFA n-3, w porównaniu z grupą kontrolną świń żywionych mieszanką pszenicy i jęczmienia. Mniejszy udział pszenżyta w diecie nie wpłynął na tę korzystną zmianę profilu kwasów tłuszczowych. Ale stosunek rodziny kwasów PUFA n-6 do PUFA n-3 mimo to obniżył się z 11,29 w grupie kontrolnej odpowiednio do 10.62, 10.42 i 10.19 w kolejnych grupach doświadczalnych, co świadczy o korzystnym wpływie dodatku pszenżyta do mieszanki paszowej nawet w mniejszym udziale na profil kwasów) tłuszczowych mięsa ($p < 0,01$). Badania Turyk i wsp. [24] nie wykazały istotnych różnic w zawartości SFA, UFA, MUFA i PUFA w mięsie świń żywionych pszenżytem lub jęczmieniem. Jednak wyniki badań własnych są zgodne z dawno udowodnionym wpływem składu kwasów tłuszczowych paszy na skład tkanki tłuszczowej świń [11, 24]. Ziarno pszenżyta ma bowiem korzystniejszy stosunek PUFA n-6 do PUFA n-3 niż ziarno jęczmienia i pszenicy, co wynika z danych przedstawionych we wstępie pracy.

Powyższe cechy jakości mięsa stwierdzone jako niezależne od żywienia pszenżytem znalazły potwierdzenie w cechach organoleptycznych. Zarówno zapach, smak, soczystość, jak i kruchość nie różniły się istotnie pomiędzy grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi, otrzymującymi w diecie różne dawki pszenżyta. Podobne wyniki wykazali Sullivan i wsp. [23], którzy wykazali, że smak, soczystość, żujność, kruchość i zapach gotowanego mięsa LL świń żywionych pszenżytem nie różniły się istotnie od żywionych mieszanką kukurydziano-sojową.

Mimo że wykonane badania nie wykazały na ogół wpływu pszenżyta w żywieniu świń na zmianę jakości mięsa w porównaniu z pszenicą i jęczmieniem, to uwydatniły poprawę profilu kwasów tłuszczowych mięsa i to tym znaczniejsza im był większy dodatek ziarna pszenżyta w dawce pokarmowej. Nie ma zatem przeszkód, aby postawić tezę, że z punktu widzenia jakości mięsa dodatek 60 % ziaren pszenżyta w okresie żywienia grower i finiszera wpływa na istotną poprawę wartości zdrowotnej mięsa.

Naukowcy ze Stanów Zjednoczonych uważają, że pszenżyto odmian uprawianych w USA może być stosowane jako jedyne zboże w mieszankach sypkich i granulowanych dla wszystkich grup świń [12]. W innych krajach zaleca się udział pszenżyta w mieszankach w granicach od 10 do nawet 70 %. Stosując pszenżyto jako zamiennik kukurydzy, ze względu na wyższy udział białka (pszenżyto 12,2 %, kukurydza 9,4 %), można zmniejszyć udział kosztownej wysokobiałkowej śrutu sojowej w żywieniu świń. Poza tym pszenżyto jest tańsze od kukurydzy o ok. 20 % [17], co dodatkowo obniża koszt żywienia.

Wnioski

1. Dodatek 60 % ziarna pszenżyta w diecie świń w okresie żywienia grower-finisher pozwala na obniżenie poziomu kwasów tłuszczowych SFA w mięsie o ok. 1,6 pp ($p \leq 0,05$), wzrost poziomu kwasów jednonienasyconych MUFA o ok. 1,5 pp ($p \leq 0,05$), wzrost poziomu kwasów PUFA n-3 o ok. 0,16 pp ($p \leq 0,01$) i obniżenie stosunku rodziny kwasów PUFA n-6 / PUFA n-3 z 11,29 do 10,19 w porównaniu z grupą kontrolną, żywioną mieszanką pszenicy i jęczmienia. Jest to efekt korzystny z punktu widzenia cech zdrowotnych mięsa.
2. Dodatek pszenżyta w dawce pokarmowej tuczników w badanej proporcji 20 do 60 % dawki nie ma wpływu na cechy fizykochemiczne, chemiczny skład podstawowy, zawartość cholesterolu i na cechy sensoryczne mięśnia *longissimus lumborum* w porównaniu z grupą kontrolną.
3. Dodatek pszenżyta w żywieniu tuczników w badanej proporcji nie wpływa na grubość słoniny grzbietowej, grubość schabu oraz zawartość mięsa w tuszy w porównaniu z grupą kontrolną.

Acknowledgments

This research was supported by the National Centre for Research and Development (<https://www.ncbr.gov.pl/en/>) in Poland and conducted within the Biostrateg program [grant 'ENERGYFEED' number: BIOSTRATEG2/297910/12/NCBR/2016].

Literatura

- [1] Apple J.K., Maxwell C.V., Galloway D.L., Hamilton C.R., Yancey W.S.: Interactive effect of dietary fat source and slaughter weight in growing-finishing shine. II. Fatty acid composition of subcutaneous fat. *J. Anim. Sci.*, 2009, 1423-1440.
- [2] AMSA. Meat Colour Measurement Guide. American Meat Science Association, 2012.
- [3] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska J.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. Nauk. PTTŻ Kraków, 2009.
- [4] Beltranena E., Solmon D.F., Geonewardene L.A., Zijlstra R.T: Triticale as a replacement for wheat in diets for weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 2008, 88, 631-635.
- [5] Chapman B., Salomon D., Dyson., Blackly K., 2015.: Triticale production and utilization manual. Spring and Winter triticale for grain, forage and value-added. Alberta Agriculture Food and Rural Development, http://www1.agric.gov.ab.ca/5_department/deptdocs.Nst/All/fed10538
- [6] EU Council No 1308/2013 establishing a common organization of the markets in agricultural products.
- [7] Grau R., Hamn R.: Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung in Fleisch. *Fleischwirtschaft*, 1952, 4, 295-297.
- [8] ISO 1942, 2000. Meat and meat products. Determination of water content.
- [9] ISO 1944, 2000. Meat and meat products. Determination of free fat content.
- [10] Janitz W.: O żywieniowych właściwościach tłuszczów zwierzęcych. *Gospodarka Mięsna*, 1995, 10, 40-41.
- [11] Jaśkiewicz B.: Pszenżyto-zboże paszowe. *Przeł. Hod.*, 2002, 6, 18-20.
- [12] Kasproicz-Potocka M.: Zboża w żywieniu świń – pszenżyto. *Trzoda Chlewna*, 2011, 10, 60-63.
- [13] Lisiak D., Janiszewski P., Borzuta K., Schwarz T., Grześkowiak E., Siekierko U., Lasek J.: The effect of feeding fattener pigs with hybrid rye on selected growth and carcass traits and on meat quality characteristics. *Annals Anim. Sci.*, 2023, 23, 2, 529-536.
- [14] Micek P.: Nutritional usefulness to ruminants of grain of Polish cereal species and cultivars. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie nr 449, Kraków 2008, rozprawy zeszyt 326, s.127.*
- [15] Morel P.C., McIntosh J.C., Janz J.A.M.: Alteration of the fatty acid profile of pork by dietary manipulation. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 2006, 19, 431-437.
- [16] Musella M., Cannata S., Rossi R., Mourot J., Baldini P., Carino C.: Omega-3 polyunsaturated fatty acid from extruded linseed influences the fatty acid composition and sensory characteristics of dry cured ham from heavy pigs. *J. Anim. Sci.*, 2009, 87, 3578-3588.
- [17] Notowania, 2022. Ceny zbóż. *Trzoda Chlewna*, 5, 6.
- [18] Normy żywienia świń. Wartość pokarmowa pasz (praca zbiorowa). PAN-IŻiFZ, Omnitech Press, Warszawa, 1993
- [19] Pohja N.S., Nainivaara F.P.: Die Bestimmung der Wasserbindung des Fleischesmittels der Konstantaldruckmethodes. *Fleischwirtschaft*, 1957, 9, 193-195.
- [20] PN-75/A-04018. Mięso i produkty mięsne, oznaczanie białka metodą Kjeldahla


- [21] PN-EN ISO 5509. Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids.
- [22] Stein H.H., Lagos L.V., Casas G.A.: Nutritional value of feed ingredients of plant origin fed to pigs. *Anim. Feed Sci. Techn.*, 2016, 219, 33-69.
- [23] Sullivan Z.M., Honeyman M.S Gibson L.R., Prusa K.H.: Effects of triticale-based diets on finishing pig performance and pork quality in deep-bedded hoop barns. *Meat Sci.*, 2007, 76, 428-437.
- [24] Turyk Z., Osek., Milczarek A., Janocka A.: Skład chemiczny mięsa i lipidogram krwi tuczników żywionych mieszankami zawierającymi jęczmień lub pszenżyto. *Roczn. Nauk. PTZ*, 2015, 11, 2, 71-79.
- [25] Praca zbiorowa pod red. Pisuli A. i Pospiecha E. Mięso – Podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW, Warszawa, 2011.
- [26] Praca zbiorowa pod kier. T. Blicharskiego. Aktualne wartości dietetyczne wieprzowiny, jej znaczenie w diecie i wpływ na zdrowie konsumentów. Polski Związek Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”. Warszawa 2015.
- [27] Rocznik Statystyczny RP GUS, Warszawa 2023.
- [28] Stanisław A. Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny. Stat Salt Polska, Kraków, 1998.
- [29] Woods V.B., Fearon A.M.: Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs. A review. *Liv. Sci.*, 2009, 126, 1-20.
- [30] Wood J.D., Richardson R.J., Nute G.R., Fischer A.C., Campo M.M., Kasapidon E., Sheard P.R., Enser M.: Effect of fatty acids on meat quality. A review. *Meat Sci.* 2003, 66, 21-32.
- [31] PA/04 wyd.7 z 08.06.2021 Oznaczanie zawartości cholesterolu i steroli metodą chromatografii gazowej

THE EFFECT OF DIFFERENT AMOUNTS OF TRITICALE IN PIGS DIET ON CHEMICAL COMPOSITION PHYSICAL AND SENSORY TRAITS AND ON THE FATTY ACIDS PROFILE OF PORK MEAT

S u m m a r y

Background. The aim of the research was to determine the effect of different amounts of triticale grains in pigs diets on meat quality and fatty acid profile. The experiment was performed with 100 Polish Landrace pigs. The pigs were fed with barley and wheat mixture (control group) and with triticale grains addition at the level of 20 %, 40 % and 60 %. Number of pigs in each group was 25 animals. After slaughter the meat content evaluation of pig carcass was done and analyse of quality and also chemical components of *longissimus lumborum* muscle.

Results and conclusions. It was found that the tested triticale grains in 60 % addition in diet had a significant effect on lowering of SFA level, increase level of MUFA acids and lowering of the ratio PUFA n-6/n-3 acids in LL muscle in comparison to control group. Fed with triticale addition had no effect on study physico chemical and sensorial traits and on the meatiness and fattness of carcasses and on the chemical composition of LL muscle.

Key words: triticale, feeding, fatteners, meat quality, fatty acid profile 

MICHAŁ HALAGARDA, BERNADETA PSIUK,
KATARZYNA KOWA-HALAGARDA, STANISŁAW POPEK

DETERMINING THE ORIGIN OF WINE BASED ON THE SELECTED QUALITY PARAMETERS

S u m m a r y

Background. Wine is a commonly consumed alcoholic beverage. The quality and characteristics of this beverage are influenced by various factors, such as winemaking technique, the quality of the raw material, the degree of its maturity, grape variety, human talent, and the most importantly, a territory or rather its climate, height above sea level, topography and soil. The aim of the research was to investigate the impact of grapevine origin on the selected quality parameters of Cabernet Dorsa red wine. Additionally, the possibility of identifying the origin of Cabernet Dorsa wine based on differentiating criteria was verified. The research material consisted of Polish, German and Swiss dry red wine made from the grape variety Cabernet Dorsa. The following parameters were used to compare the quality of the chosen wines: the concentration of alcohol, total dry extract (TDE) and volatile acids (VA), titratable acidity (TA) and total phenolic content (TPC). Additionally, a sensory analysis was performed.

Results and conclusions. The results show that wines produced from grapes of the same cultivar (Cabernet Dorsa) grown in different countries differ statistically significantly in TDE, TA and TPC. Despite producers' declarations, there were slight yet statistically significant differences in alcohol concentration. Moreover, the Swiss wines were assessed as having the highest rated color among tested products. The Principal Component Analysis showed that, on the basis of chemical and sensory parameters, it is possible to distinguish between wines from the three selected countries. The results obtained provide an excellent basis for further research, also concerning different countries and grape cultivars.

Keywords: Cabernet Dorsa; polyphenols; red wine; sensory quality; wine discrimination

Introduction

Wine consumption has a long tradition as its history dates back to 5500 B.C. [12]. Nowadays, wine is still a very popular alcoholic beverage. In 2023, the estimated world wine production was 244 mL [30]. Wine is characterized by a high content of

Dr hab. inż. prof. UEK M. Halagarda ORCID: 0000-0001-5716-0353, mgr inż. B. Psiuk; mgr. inż. K. Kowa-Halagarda; prof. dr hab. inż. S. Popek ORCID: 0000-0002-3681-1679, Katedra Jakości Produktów Żywnościowych, Instytut Nauk o Jakości i Zarządzania Produktem, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Sienkiewicza 5, 30-033 Kraków. Kontakt e-mail: michal.halagarda@uek.krakow.pl

polyphenols, which have anti-cancer and heart protective properties [20]. Consumers can, however, choose from plenty of different varieties and styles of wine. Their quality and characteristics can differ significantly. It is influenced by various winemaking techniques [15, 36], as well as the quality of the raw material and the degree of its maturity, grape variety and human talent. Correspondingly, the most important factor affecting the quality of grapes is terroir or rather its climate, height above sea level, topography and soil [14, 23, 35].

The values of physicochemical parameters determining the quality of wine depend on many factors, including climatic conditions, i.e. temperature, rainfall, irrigation, wind and sunlight. Grapes which are grown in warmer conditions contain more sugar, which generally results in a higher alcohol concentration in the finished product [31]. Higher temperatures also affect aromatic compounds [47]. However, high temperatures and solar radiation are likely to result in a reduction in acidity and flavonoid content in crops [25]. On the other hand, reduced irrigation promotes accumulation of phenolic compounds, especially anthocyanins, in grape berries [5]. Therefore, it can be assumed that the wine origin is associated with its quality [33, 40].

Germany, Switzerland and Poland are not among the world's largest wine producers. Climatic conditions for viticulture in those countries are worse than in typical wine regions. However, they can favor accumulation of certain compounds, including polyphenols. Wines are less sweet and more acidic, which results in a more fresh and crisp taste [13]. Moreover, there are certain grape varieties, the production of which requires a cool climate. Germany, Switzerland and Poland have favorable climatic conditions for cultivation of the Cabernet Dorsa grape. Consequently, Cabernet Dorsa wines have specific, full bodied characteristics [3, 43]. Nonetheless, even closely located regions may have their own individual terroir that affects the quality of wine [13].

The influence of wine origin on its quality has been studied by some scientists [13, 21, 25, 27]. For instance, Pieszko and Ogrodowczyk [37] conducted research into regional wine and the impact of its origin on tannin and polyphenol content. They showed that the greatest polyphenol content was found in dry red wines from France, Spain and Portugal. Jakkieska et al. [13] compared volatile compounds in wines produced in different regions of Poland, indicating the influence of terroir on the wine quality, whereas Kupsa et al. [21], using the example of Czech Riesling, identified the impact of geographical origin of wine on its phenolic profile. Nonetheless, research into Cabernet Dorsa wines is scarce. Consequently, little is known about the influence of origin on the characteristics of Cabernet Dorsa. Therefore, the aim of this study was to investigate the influence of origin on the selected quality parameters of Cabernet Dorsa red wine. Furthermore, geographical origin became an important attribute of wine, appreciated by consumers and associated by them with certain characteristics [7],

quality [36, 46] and value [35]. Therefore, sophisticated analytical methods, such as inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), isotope ratio mass spectrometry (IRMS), liquid or gas chromatography Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), near infrared spectroscopy (NIR), and nuclear magnetic resonance (NMR) are investigated as a methods of wine authentication. However, basic chemical parameters can also be a reliable alternative for that purpose [7, 35, 40]. Therefore, the possibility of the identification of the origin of Cabernet Dorsa wine based on differentiating criteria was also verified.

Materials and methods

Samples

The research material consisted of Polish, German and Swiss dry red wine made from the single grape (*Vitis vinifera* L.) variety – Cabernet Dorsa (as declared by their producers). Seven wines from different vineyards located in the Podkarpackie region (Poland), Rheinhessen region (Germany) and Aargau region (Switzerland) were collected. Wines were produced following the standard winemaking procedures [42]. The wines were produced in 2018. Samples were collected in 2020 from three different barrels and bottles. The bottles were kept in controlled conditions (a temperature of 15 °C) until the analyses.

Chemical analysis

The assessment of the quality of wines was based on an analysis considering the following parameters analyzed according to Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis [6]:

- concentration of alcohol in % v/v according to OIV-MA-AS312-01 using a pycnometer,
- amount of total dry extract in g/L according to OIV-MA-AS2-03B,
- concentration of volatile acids according to OIV-MA-AS313-02,
- titratable acidity (TA) in g of tartaric acid/L according to OIV-MA-AS313-01,
- total phenolic content (TPC) according to the Folin-Ciocalteu method (OIV-MA-AS2-10) and based on a calibration curve expressed in mg of gallic acid per 1 L of wine.

All analyses were performed in triplicate.

Sensory analysis

In addition to the physicochemical assessment, a sensory analysis was also performed. The samples were evaluated by a team of 12 selected assessors, chosen according to guidelines of the ISO 8586 Standard [10]. The sensory panel assessed the color, odor, flavor and clarity of wines using a five-point descriptive scale according to

the methodology presented in the PN-A-79122:1996/Az1 Standard [38]. The analyses were conducted in a sensory laboratory that was designed in accordance with the guidelines of the ISO 8589 Standard [11]. They were performed at room temperature (22 °C – 24 °C) and under artificial daylight.

Statistical analysis

To account for variance due to the wine manufacturer, differences between the origin of wine were analyzed using linear mixed models with the producer as a random effect and the origin of wine as a fixed effect. To identify differences between the Polish, German and Swiss wines tested, a Principal Component Analysis (PCA) was performed. As a result, a two-dimensional sample map was developed. For the purpose of PCA, variables were standardized. Statistical analyses were performed using statistical package R, version 4.0.5 [39]. A value of 0.05 was required for statistical significance.

Results and discussion

Chemical parameters

Despite the identical declared alcohol content, slight differences between the tested wines were detected. The discrepancies did not exceed the tolerance level of 0.5 % allowed by EU law [41]. However, as confirmed by the results of the statistical analysis (Table 1), the Swiss wines were distinguished by the significantly highest concentration of alcohol, while the German ones had the lowest. The differences may be a result of the slightly different climate between the countries of wine origin. A warmer climate (higher temperatures and more sunny days) increases sugar content in grapes, and hence results in a higher alcohol concentration in the finished product [16, 47], even over 15 % v/v [22]. Correspondingly, also vinification procedures used by producers might have influenced alcohol concentration in the tested wine [1]. The concentrations of alcohol noted in the tested wines (10.98 ÷ 11.25 % v/v) are lower than the average determined by Kapusta et al. [17] for Polish Cabernet Dorsa wine (13.21 % v/v) and for Polish red wines produced from other hybrid grapes (from 11.86 to 12.77 % v/v).

The tested wines also differed significantly in the content of total dry extract. The Swiss wines contained what were statistically significantly the highest amounts of these compounds. By contrast, the Polish wines were characterized by what were significantly the lowest amounts of these compounds. The differences might be attributed to the varying concentrations of polyphenols in the tested wines, and therefore be a consequence of varying cultivation conditions and procedures, as well as variations in processing [36]. Total dry extract for analyzed Cabernet Dorsa wines (18.2 ÷ 20.98 g/L) were much lower than for Merlot wines (26.4 ÷ 20.9 g/L) examined by Visan et al

[48] and for Cabernet Sauvignon, Frankovka, Merlot and Pinot Noir (26 ÷ 29.67 g/L) studied by Kojić and Jakobek [19].

Table 1. The results of chemical analyses of selected quality parameters of wine
Tabela 1. Wyniki analiz chemicznych wybranych parametrów jakościowych wina

Parameter / Parametr	Origin / Pochodzenie			Linear mixed models / Liniowe modele mieszane		
	D	PL	CH	PL vs D	CH vs D	CH vs PL
Alcohol / Alkohol [% v/v]	10.98±0.10	11.05±0.14	11.25±0.12	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$
Titratable acidity [g of tartaric acid/L] / Kwasowość miareczkowa [g kwasu winowego/L]	5.57±0.09	5.49±0.11	5.49±0.09	$p = 0.036^*$	$p = 0.025^*$	$p = 0.882$
Volatile acids (g of acetic acid/L) / Kwasy lotne (g kwasu octowego/L)	0.35±0.09	0.31±0.07	0.27±0.07	$p = 0.181$	$p = 0.027^*$	$p = 0.109$
Total dry extract / Cakowity suchy ekstrakt (g/L)	19.37±0.2	18.2±0.13	20.98±0.08	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$
TPC (mg GAE/L)	986±42	899±29	1,904±41	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$	$p < 0.001^*$

Explanatory notes: – mean values ± SD; SD – Standard Deviation; *statistically significant ($p < 0.05$); D – Germany, PL – Poland, CH – Switzerland; TPC – total phenolic content
Objaśnienia: – wartości średnie ± SD; SD – odchylenie standardowe; *istotne statystycznie ($p < 0,05$); D – Niemcy, PL – Polska, CH – Szwajcaria; TPC – całkowita zawartość polifenoli

Volatile organic acids (VA), among other constituents, have influence on the sensory profile of wine, mainly so-called ‘fermentative’ flavor. Therefore, their overpresence in wine is unwanted [49]. Comparing to the literature data [19, 28, 33, 48], the concentration of volatile acids in the tested wines was at a low level, but slightly higher than determined by Marchi et al [24] for Swiss Cabernet Dorsa wine (0.23 g acetic acid/L). It ranged between 0.27 and 0.35 g of acetic acid/L. The statistically significant differences concerned German and Swiss wines, i.e. wines characterized by the highest and lowest amount of these compounds.

The German wines were also distinguished by the highest titratable acidity (TA) among the tested wines ($p < 0.05$). The acidities noted are typical of Cabernet Dorsa red wine, as Kapusta et al. [17] determined a similar value for Polish wine of this kind – 5.63 g of tartaric acid/L. On the other hand, Marchi et al. [24] noted higher titratable acidity for Swiss Cabernet Dorsa wine – 7.1 g of tartaric acid/L. Nevertheless, all the determined values are also generally characteristic of red wine. Kapusta et al. [17] showed that Polish red wines produced from hybrid grapes had acidity ranging from 4.41 to 7.6 g of tartaric acid/L. Navarro et al. [28] showed that TA of Spanish Cabernet

Sauvignon ranged between 5.4 and 5.7 g of tartaric acid/L, depending on the year of production. Similarly, TA of Romanian Merlot differed between vintages (from 5.42 to 6.48 g of tartaric acid/L) [48]. Ranaweera et al [40] compared Australian Cabernet Sauvignon wines (TA from 5.5 to 6.0 g of tartaric acid/L) with French Bordeaux (TA of 5.0 g of tartaric acid/L) indicating statistically significant differences in TA between products of different origin. The differences in TA between wines produced from different grape varieties were shown by Kojić and Jakobek [19] and Samoticha et al [44]. However, they may also be a consequence of divergent viticulture techniques, climatic conditions or winemaking practices [40, 44], which most probably caused the discrepancies in the tested Cabernet Dorsa wines.

Wine is a product rich in polyphenols, which contribute to the formation of color, aroma and flavor of wine [4]. Red wines are characterized by the highest TPC, followed by rosé and white wines [32]. In the current research, total phenolic content (Table 1) varied significantly between the tested wines of different origin. It was the highest (1,904 mg GAE/L) for the Swiss wines and the lowest (899 mg GAE/L) for the Polish samples. The lower content of polyphenols in Polish Cabernet Dorsa red wine was noted by Kapusta et al [17] – 770.15 mg GAE/L. In their research, other Polish red wines contained from 608.1 mg GAE/L (Cabernet Cortis) to 1,860.8 mg GAE/L (Regent) of polyphenols. Socha et al. [45] determined TPC ranging from 996.17 to 1,668 mg GAE/L for seven Polish red wine varieties. The differences in TPC content concerning the examined samples of red wine can be ascribed to many factors. Among them, the most important ones seem to be: the variety of grapes, environmental conditions (especially temperature) and the degree of maturity of grapes during the harvest, the fertility of soil, water availability [9, 34, 44] and winemaking practices [29], particularly post-fermentation and clarification treatment, as well as the length of storage and aging [4, 27, 33]. However, similarly to the research conducted by Belmiro et al [2], further topic-focused studies are required to verify exact mechanisms.

Sensory analysis

The sensory characteristics of wine are driven by its composition, which in turn is influenced by terroir, winemaking practices typical of the region, and grape variety. Therefore, it can be representative for a certain geographical area of origin [46].

The results of the sensory analysis (Table 2) show that all the tested wines were of high sensory quality. All of them had perfect clarity. Polyphenol compounds, especially anthocyanins, have a major effect on the color [18, 32]. In the current study, wines with the highest TPC (Swiss wines) were distinguished by significantly the highest and almost perfect scores for color ($p < 0.05$). The German wines, by contrast, received significantly better scores for flavor in comparison to the Polish samples ($p < 0.05$). Meillon et al [26] and Goldner et al [8] showed that the content of alcohol affects the

perceived amount and strength of aromas in wine. Although, in the current research, wines differed significantly in alcohol content, the differences for odor ratings were statistically insignificant. Most probably the variability of alcohol concentrations was too low to influence the aroma in such a way to be perceived by the sensory assessors.

Table 2. Results of sensory analysis

Tabela 2. Wyniki analizy sensorycznej

Parameter / Parametr	Origin / Pochodzenie			Linear mixed models / Liniowe modele mieszane		
	D	PL	CH	PL vs D	CH vs D	CH vs PL
Color / Barwa	4.87±0.25	4.79±0.35	4.99±0.08	$p = 0.213$	$p = 0.004^*$	$p < 0.001^*$
Odor / Zapach	4.79±0.25	4.79±0.32	4.68±0.31	$p = 1$	$p = 0.085$	$p = 0.119$
Flavor / Smak	4.83±0.24	4.64±0.42	4.76±0.34	$p = 0.012^*$	$p = 0.264$	$p = 0.154$
Clarity / Klarowność	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	$p = 1$	$p = 1$	$p = 1$

Explanatory notes: – mean values ± SD; SD – Standard Deviation; *statistically significant ($p < 0.05$); D – Germany, PL – Poland, CH – Switzerland

Objaśnienia: – wartości średnie ± SD; SD – odchylenie standardowe; *istotne statystycznie ($p < 0,05$); D – Niemcy, PL – Polska, CH – Szwajcaria

Verification of the differences between wines of different origin with the use of Principal Component Analysis (PCA)

In order to illustrate the differences between the wines of the selected origins, the PCA method was employed. The results are presented in Figure 1. The first two main components explained 70.65 % of the total variance; while the first component explained 51.9 % and the second one 18.75 %.

The first component indicates a high content of alcohol, TPC and total dry extract, along with a low concentration of volatile acids and high scores in the sensory assessment of color and low scores in odor assessment. The second component indicates high taste ratings and high titratable acidity.

The individuals factor map (Fig. 1a) shows that the first component perfectly separates the Swiss wines from the German and Polish samples. The Swiss samples are characterized by a high content of alcohol, TPC and total dry extract, while having a low concentration in volatile acids. They are also noted for their high color and received low odor ratings in the sensory assessment. The second component separates the Polish wines from the German ones. The German samples have higher taste ratings and higher titratable acidity.

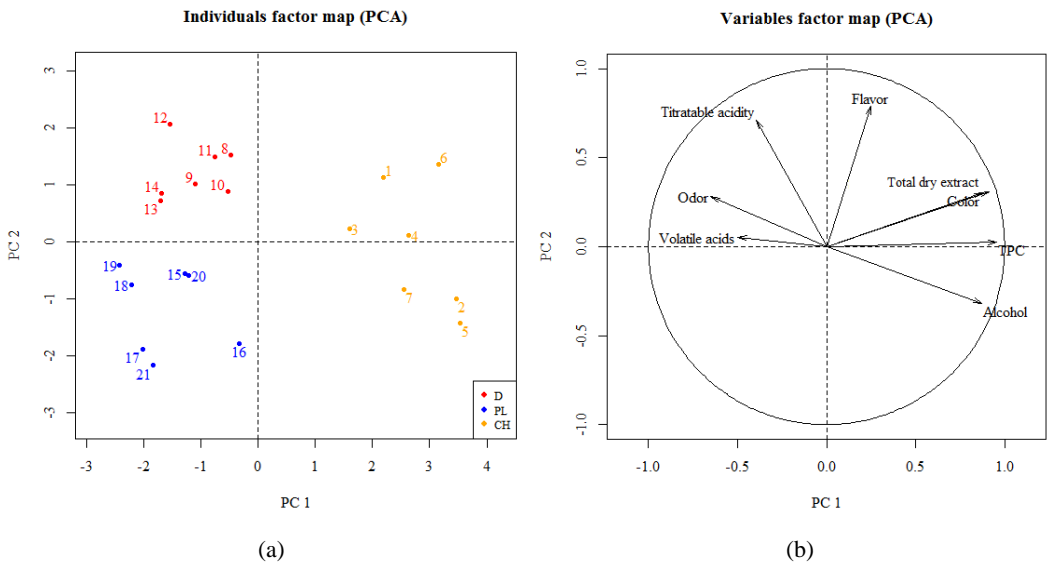


Figure 1. The results of the Principal Component Analysis (PCA)
 Rycina 1. Wyniki analizy głównych składowych (PCA)

Conclusions

The research results confirm that wine manufactured from grapes of the very same cultivar grown in different regions vary in quality. When considering the wine made from grapes of Cabernet Dorsa cultivar originating from Poland, Switzerland and Germany, differences concerned alcohol concentration, total dry extract content, titratable acidity, TPC, as well as color ratings. The discerned variations may be ascribed to distinct terroirs and vinification processes, complemented by local know-how. The PCA analysis also showed that, on the basis of physicochemical and sensory parameters, it is possible to distinguish between wines from the three selected countries. Due to the low number of samples tested, the study should be considered preliminary. However, the results obtained in the research presented provide an excellent basis for further research, also concerning different countries and different grape cultivars.

References

- [1] Baiano A., Mentana A., Varva G., Quinto M.: Effects of different vinification procedures and aging containers on phenolic and volatile composition of Greco white wines. *Eur. Food Res. Technol.*, 2017, 243, 1667-1680.
- [2] Belmiro T.M.C., Pereira C.F., Paim A.P.S.: Red wines from South America: content of phenolic compounds and chemometric distinction by origin. *Microchem. J.*, 2017, 133, 114-120.

- [3] Bucur G.M., Stroe M.V.: Study on the impact of climate changes on the phenology and adaptability of some varieties intended to production quality red wines. *Sci. Papers. Ser. B, Hortic.*, 2023, 67 (1), 252-259.
- [4] Canizo B.V., Escudero L.B., Pellerano R.G., Wuilloud R.G.: Quality monitoring and authenticity assessment of wines: Analytical and chemometric methods. W: *Quality Control in the Beverage Industry. Volume 17. The Science of Beverages*. Woodhead Publishing: Duxford, UK, 2019, pp. 335-384.
- [5] Chaves M.M., Zarrouk O., Francisco R., Costa J.M., Santos T., Regalado A.P., Rodrigues M.L., Lopes C.M.: Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Ann. Bot.*, 2010, 105 (5), 661-676.
- [6] OIV: Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Dostęp w Internecie [10.01.2024]: <https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis>
- [7] Fan S., Zhong Q., Gao H., Wang D., Li G., Huang Z.: Elemental profile and oxygen isotope ratio ($\delta^{18}O$) for verifying the geographical origin of Chinese wines. *J. Food Drug. Anal.*, 2018, 26(3), 1033-1044.
- [8] Goldner M. C., Zamora M.C., di Leo Lira P., Gianninoto H., Bandoni A.: Effect of ethanol level in the perception of aroma attributes and the detection of volatile compounds in red wine. *J. Sens. Stud.*, 2009, 24, 243-257.
- [9] Hernandez-Jimenez A., Gomez-Plaza E., Martinez-Cutillas A., Kennedy J.A.: Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell \times Syrah grapes. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57(22), 10798-10803.
- [10] ISO 8586:2012 Sensory analysis. General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors.
- [11] ISO 8589:2007 Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms.
- [12] Jackson R.S.: *Wine science principles and applications*. 3rd ed. Elsevier, 2008.
- [13] Jakkieleńska D., Wawrzyniak R., Frankowski M., Ziola-Frankowska A.: Characteristic of Volatile Components Profile in Polish Wines by GC-MS. *Żywność-Nauka-Technologia-Jakość*, 2023, 30 (3), 139-159.
- [14] Johnson-Bell L.: *Climate Change and Water Management: Non-viability of Freshwater Irrigation in Viticulture*. W: *Climate Action*. Red. W. Leal Filho, A. Azul, L. Brandli, P. Özuyar, i T. Wall, Springer, Cham. 2019, pp. 143-154.
- [15] Jones-Moore H.R., Jelley R.E., Marangon M., Fedrizzi, B.: The polysaccharides of winemaking: From grape to wine. *Trends Food Sci. Technol.* 2021, 111, 731-740.
- [16] Jordão A.M., Vilela A., Cosme F.: From Sugar of Grape to Alcohol of Wine: Sensorial Impact of Alcohol in Wine. *Beverages*, 2015, 1, 292-310. 11
- [17] Kapusta I., Cebulak T., Oszmiański J.: Characterization of Polish wines produced from the interspecific hybrid grapes grown in south-east Poland. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244, 441-455.
- [18] Kapusta I., Cebulak T., Oszmiański J.: The anthocyanins profile of red grape cultivars growing in southeast Poland (Subcarpathia region). *J. Food Meas. Charact.*, 2017, 11, 1863-1873.
- [19] Kojić N., Jakobek L.: (2019) Chemical and sensory properties of red wines from Baranja vineyards. W: *Proceedings of International Conference 17th Ružička days "Today Science – Tomorrow industry"*. Red. S. Tomas, Ačkar D. Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Food Technology Osijek, Croatian Society of Chemical Engineers, Osijek and Zagreb, 2019, pp. 63-71.
- [20] Koranga M., Pandey R., Joshi M., Kumar, M.: Analysis of white wine using machine learning algorithms. *Mater. Today: Proc.*, 2021, 46(20), 11087-11093.

- [21] Kupsa J., Pavloušek P., Kumšta M., Lampř L.: Phenolic profiles of Riesling wines originating from different terroirs of the Czech Republic. *Mitt. Klosterneubg.*, 2017, 67, 182-193.
- [22] Liu L., Cozzolino D., Cynkar W. U., Gishen M., Colby C.B.: Geographic Classification of Spanish and Australian Tempranillo Red Wines by Visible and Near-Infrared Spectroscopy Combined with Multivariate Analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54(18), 6754-6759.
- [23] Lorenzo M.N., Taboada J.J., Lorenzo, J.F.: Influence of climate on grape production and wine quality in the Rías Baixas, north-western Spain. *Reg. Environ. Change*, 2013, 13, 887-896.
- [24] Marchi D., Lanati D., Mazza G., Cascio P.: Composizione in antociani e flavonoli di vini prodotti nel territorio svizzero. 42nd World Congress of Vine and Wine, BIO Web of Conferences 15, Geneva, Switzerland, 2019 July, 15-19.
- [25] Martínez-Lüscher J., Brillante L., Kurtural S.K.: Flavonol Profile Is a Reliable Indicator to Assess Canopy Architecture and the Exposure of Red Wine Grapes to Solar Radiation. *Front. Plant Sci.*, 2019, 10 (10), 1-15.
- [26] Meillon S., Viala D., Medel M., Urbano C., Guillot G., Schlich P.: Impact of partial alcohol reduction in Syrah wine on perceived complexity and temporality of sensations and link with preference. *Food Qual. Prefer.*, 2010, 21, 732-740.
- [27] Merkytė V., Longo E., Windisch G., Boselli E.: Phenolic Compounds as Markers of Wine Quality and Authenticity. *Foods*, 2020, 9 (12), 1785.
- [28] Navarro M., Kontoudakis N., Gómez-Alonso S., García-Romero E., Canals J.M., Hermosín-Gutiérrez I., Zamora F.: Influence of the volatile substances released by oak barrels into a Cabernet Sauvignon red wine and a discolored Macabeo white wine on sensory appreciation by a trained panel. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244, 245-258.
- [29] Nel A.P.: Tannins and anthocyanins: From their origin to wine analysis - A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 2018, 39 (1), 1-20.
- [30] OIV : In 2023, world wine production is expected to be the smallest in the last 60 years - International Organisation of Vine and Wine Intergovernmental Organisation. [online]. Dostęp w Internecie [08.01.2024]: <https://www.oiv.int/press/2023-world-wine-production-expected-be-smallest-last-60-years> Ollat N., Touzard J., van Leeuwen C.: Climate Change Impacts and Adaptations: New Challenges for the Wine Industry. *J. Wine Econ.*, 2016, 11(1), 139-149.
- [31] Ollat N., Touzard J., van Leeuwen C.: Climate Change Impacts and Adaptations: New Challenges for the Wine Industry. *J. Wine Econ.*, 2016, 11(1), 139-149.
- [32] Paixão N., Perestrelo R., Marques J.C., Câmara J.S.: Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chem.*, 2007, 105 (1), 204-214.
- [33] Pajović-Šćepanović R., Savković S., Raičević D., Popović T.: Characteristics of the Montenegrin rose wine. *Agric. For.*, 2017, 63 (4), 131-139.
- [34] Palade L.M., Popa M.E.: Polyphenol Fingerprinting Approaches in Wine Traceability and Authenticity: Assessment and Implications of Red Wines. *Beverages*, 2018, 4 (4), 75.
- [35] Pasvanka K., Tzachristas A., Proestos C.: *Quality Tools in Wine Traceability and Authenticity. W: Quality Control in the Beverage Industry*, Academic Press, Cambridge, MA, USA, 2019, pp. 289-334.
- [36] Pereira L., Gomes S., Barrias S., Gomes E.P., Baleiras-Couto M., Fernandes J.R., Martins-Lopes P.: From the Field to the Bottle. An Integrated Strategy for Wine Authenticity. *Beverages*, 2018, 4 (4), 71.
- [37] Pieszko C., Ogrodowczyk E.: Content of tannins and polyphenols in wines. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 2010, 43, 509-514.
- [38] PN-A-79122:1996/Az1:2001. Grape wine.

- [39] R Core Team, R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. [online]. Dostęp w Internecie [01.09.2023]: <https://www.R-project.org/>.
- [40] Ranaweera R.K.R., Gilmore A.M., Capone D.L., Bastian S.E.P., Jeffery D.W.: Authentication of the geographical origin of Australian Cabernet Sauvignon wines using spectrofluorometric and multi-element analyses with multivariate statistical modelling. *Food Chem.*, 2021, 335, 127592.
- [41] Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC) No 608/2004.
- [42] Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D.: *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications, Volume 2: The Chemistry of Wine - Stabilization and Treatments* (3rd ed.). John Wiley & Sons Ltd, 2021.
- [43] Robinson J., Harding J., Vouillamoz J.: *Wine Grapes: A complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours*. Penguin, 2013.
- [44] Samoticha J., Wojdyło A., Golis T.: Phenolic composition, physicochemical properties and antioxidant activity of interspecific hybrids of grapes growing in Poland. *Food Chem.*, 2017, 215, 263-273.
- [45] Socha R., Gałkowska D., Robak J., Fortuna T., Buksa K.: Characterization of Polish Wines Produced from the Multispecies Hybrid and *Vitis vinifera* L. Grapes. *Int. J. Food Prop.*, 2015, 18, 699-713.
- [46] Souza Gonzaga L., Capone D.L., Bastian S.E.P., Danner L., Jeffery D.W.: Sensory Typicity of Regional Australian Cabernet Sauvignon Wines According to Expert Evaluations and Descriptive Analysis. *Food Res. Int.*, 2020, 138, 109760.
- [47] van Leeuwen C., Darriet, P.: The Impact of Climate Change on Viticulture and Wine Quality. *J. Wine Econ.*, 2016, 11, 150-167.
- [48] Visan V.L., Tamba-Berehoiu R.M., Popa N.C., Danaila-Guidea S.M., Dobrinou R., Groposila-Constantinescu D.: Studies on the Influence of Climate Conditions on the Quality of Merlot Wines. *Sci. Papers, Ser. Manag. Econom. Eng. Agric. Rural Dev.*, 2020, 20 (1), 613-618.
- [49] Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. *Extract. W: Production Wine Analysis*. Red. B.W. Zoecklein., K.C. Fugelsang, B.H. Gump, F.S. Nury. Springer, 1990, pp. 64-70.

OKREŚLANIE POCHODZENIA WINA NA PODSTAWIE WYBRANYCH PARAMETRÓW JAKOŚCIOWYCH

Streszczenie

Wprowadzenie. Wino jest powszechnie spożywanym napojem alkoholowym. Na jakość i właściwości tego napoju ma wpływ wiele czynników, a wśród nich: technika produkcji wina, jakość surowca, stopień jego dojrzałości, odmiana winogron, talent ludzki i co najważniejsze obszar uprawy, a raczej jego klimat, wysokość nad poziomem morza, topografia i gleba. Celem badań było zbadanie wpływu pochodzenia winorośli na wybrane parametry jakościowe wina czerwonego Cabernet Dorsa. Dodatkowo zweryfikowano możliwość identyfikacji pochodzenia wina Cabernet Dorsa na podstawie kryteriów różnicujących. Materiał badawczy stanowiło polskie, niemieckie i szwajcarskie wino czerwone wytrawne produkowane ze szczepu Cabernet Dorsa. Do porównania jakości wybranych win wykorzystano następu-

jące parametry: zawartość alkoholu, ekstraktu całkowitego (TDE), i kwasów lotnych (VA), kwasowość miareczkową (TA) i całkowitą zawartość fenoli (TPC). Dodatkowo przeprowadzono analizę sensoryczną.

Wyniki i wnioski. Wyniki badań wskazują, że wina produkowane z winogron tej samej odmiany (Cabernet Dorsa) uprawianych w różnych krajach różnią się istotnie zawartością ekstraktu całkowitego, kwasowość miareczkową i całkowitą zawartość związków fenolowych. Pomimo deklaracji producentów, występowały również niewielkie, ale statystycznie istotne różnice w zawartości alkoholu. Ponadto barwa win szwajcarskich została oceniona najwyżej. Dzięki analizie głównych składowych wykazano, że na podstawie parametrów chemicznych i sensorycznych możliwe jest rozróżnienie win z trzech wybranych krajów. Uzyskane wyniki stanowią doskonałą podstawę do dalszych badań, także dotyczących innych krajów i innych odmian winogron.

Słowa kluczowe: Cabernet Dorsa; polifenole; czerwone wino; jakość sensoryczna; różnicowanie wina ☒

ANITA KUKUŁOWICZ, ANNA ZBAWICKA

SAFE SOY: A MICROBIOLOGICAL FACE-OFF BETWEEN ORGANIC AND CONVENTIONAL TOFU

S u m m a r y

Introduction: The global demand for soy and soy products continues to grow steadily, with forecasts indicating further increases in the production of this commodity. While soy is primarily used as animal feed, its consumption among consumers is on the rise. Both organic and traditional agriculture aim to achieve the same goal – producing food products. In accordance with the current European Union law, all food available on the market, not only that which is labeled as organic, must be safe and provide proper nutritional values. Soy products, such as tofu, are susceptible to the growth of microorganisms due to their high water and protein content, posing a health risk to consumers. The aim of the study was to compare the microbiological quality of organic and conventional tofu. Total bacterial counts, total fungal counts, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were determined.

Results and conclusions: *E. coli* was not detected in the tested tofu samples, while the presence of *S. aureus* was found in more than half of the samples, with a maximum of $5.4 \cdot 10^2$ cfu/g. A statistical analysis did not show statistically significant differences between the origin of tofu and the total counts of fungi ($p = 0.8293$) or *S. aureus* ($p = 0.5673$), but revealed significant differences in the total count of mesophilic bacteria contaminating tofu depending on their origin ($p = 0.0191$). In particular, a higher number of these microorganisms was found in organic tofu samples ($7.8 \cdot 10^2$ cfu/g) compared to conventional ones ($1.7 \cdot 10^2$ cfu/g). The highest level of fungi ($1.2 \div 4.8 \cdot 10^2$ cfu/g) was observed in 8 % of organic tofu samples. The results obtained emphasize the importance of maintaining appropriate hygiene standards during the production and storage of tofu to ensure food safety for consumers.

Key words: tofu, organic product, conventional product, food safety, microbiological contamination

Introduction

The demand for soy and soy products is steadily increasing worldwide [32]. According to a report published in November 2023 by the International Grain Council (IGC), world soybean production for the 2023/24 season is estimated to increase by 7 % compared to the 2022/23 season, reaching 395 million tons [6]. Soy is mainly used

Dr inż. A. Kukulowicz ORCID: 0000-0002-7520-7992; inż. A. Zbawicka, Katedra Zarządzania Jakością, Wydział Zarządzania i Nauk o Jakości, Uniwersytet Morski w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia. Kontakt: email: a.kukulowicz@wznj.umg.edu.pl

as animal feed in the form of soybean meal. Approximately 20 % of the world's soy production is used for direct human consumption, and a small percentage is used as fuel [32].

The high nutritional value of soy and its products, especially protein and amino acids, makes them a dominant factor. Soy contains about 40 % protein, 35 % carbohydrates, 20 % soybean oil and 5 % ash (non-hydrated metal oxides). Additionally, it is rich in minerals, particularly calcium, phosphorus and iron, and abundant in vitamins such as thiamine, niacin and riboflavin [1, 24]. Soy is rich in phytoestrogens, which exhibit a range of estrogen-like effects [13]. The isoflavone genistein has similar effects to human estrogens, which can counteract bone tissue resorption and also has anti-cancer properties [11, 13]. Soy is an excellent source of protein for people on cereal-based diets, those with lactose intolerance, those wishing to reduce meat consumption and older adults [1, 2]. Traditional soy products such as soy milk and tofu, prepared from whole soybeans, are rich in protein and vitamins, while being low in calories, carbohydrates, fat and omega-3 fatty acids (Table 1). Furthermore, they are cholesterol-free and easily digestible [21]. Tofu comes in various textures, from soft to very firm. It is often referred to as "boneless meat". Fresh tofu contains 86.7 % water, 7.2 % protein, 3.4 % fat, 2 % carbohydrates, as well as vitamins (B₁) and minerals (iron, copper, magnesium and zinc), antioxidants [1, 18, 19, 23, 27]. Increasing consumer awareness is leading to growing demand for organic products. Plant-based products from organic farming are observed to have a lower total protein content compared to their conventional counterparts, but they also have a higher protein quality, as measured by the content of key amino acids [26].

The market for organic food in Poland is steadily growing, evident not only in organic stores, but also in grocery discounters [25]. Sources report a lack of clear scientific evidence of differences in environmental impact, nutritional quality, safety and health effects between food from conventional and organic farming [5, 9]. The control of organic products, supervised by independent certifying organizations, ensures the highest quality. Products from organic farming are subject to specific requirements, different from standard product testing, including additional controls to ensure compliance with organic standards before they are introduced to the market [7, 30]. In organic farming, the main emphasis is on quality control during the production process, not just on the final product. It is assumed that the quality of food depends on the way and conditions of its production, and the final products are only checked when there are justified concerns about their quality [9]. Growing consumer awareness of environmentally friendly techniques accelerates the development of more sustainable agricultural practices. Organic labelling provides information about products, creating a positive cycle between producers and consumers. Literature data suggests that consumers prefer organic food, considering it safer, healthier and more environmentally friendly [5, 16].

However, consumers should be aware that labels on organic products only inform about production methods and do not guarantee their safety [15]. Under the current European Union (EU) law, which is in force in Poland as well, all food sold on the market must meet safety standards and provide appropriate nutritional values, regardless of whether it is labeled as organic. For this purpose, there is an integrated food control system covering all Member States, aimed at monitoring the presence of various types of contaminants, including chemical, physical and microbiological ones [7].

Tofu cheeses, due to their high water content, protein and pH value ranging from 6.0 to 7.0, are susceptible to microbial growth, especially if proper manufacturing and/or storage procedures are not followed [2, 21, 24]. Although there are articles in the international literature regarding the microbiological quality of tofu, there are still few reports on the microbiological safety of these products from the Polish market. The aim of the study was to compare the microbiological quality of organic and conventional tofu.

Materials and methods

Materials

The research material consisted of tofu cheese of conventional origin (CT, n = 25) and organic origin (OT, n = 25). The organic products were labeled as such and had organic production certification. The composition of the examined products is presented in Table 1. The tofu cheese came from various producers and batches. The transportation time of the examined products from purchase to delivery to the laboratory did not exceed 1 hour. The research material was transported in a thermally insulated container. The products, sourced from both the EU and non-EU countries, were purchased between February and July from organic food stores or discount shops in Gdynia.

Methods

Twenty grams of each tofu sample were collected in a laminar airflow chamber and then homogenized with 180 mL of Ringer's solution using a Stomacher lab-blender 400 (Seward, Worthing, the United Kingdom). The homogenates were further diluted. In the analyzed dietary supplements:

- mesophilic aerobic bacteria counts (AMC) were conducted on Merck's nutrient agar (incubated at 30 °C for 72 hours),
- yeast and mold counts (YMC) were performed on Merck's YGC chloramphenicol agar (incubated at 25 °C for 120 hours),
- the number of *Staphylococcus aureus* was determined using bioMérieux's Baird Parker + RPF medium (incubated at 37 °C for 48 hours),
- the number of *Escherichia coli* was determined using the selective medium Coli ID by bioMérieux (incubated at 37 °C for 48 hours).

Microbiological analyses were performed using the dilution method, and microorganisms were counted according to PN-EN ISO 7218:2008.

Statistical analyses

The normality of the samples was checked using the Shapiro-Wilk test. The differences between groups in terms of bacterial counts for the samples of different origins (organic and conventional) were tested using the Mann-Whitney U test. The significance level was set at 0.05. The data was processed using Statistica v.13 software (StatSoft, Inc.).

Results

The presence of *E. coli* was not detected in any of the samples analyzed. In over half of the analyzed tofu samples, the presence of *S. aureus* was observed. The maximum level of these bacteria for CT and OT was $3.3 \cdot 10^2$ and $5.4 \cdot 10^2$ cfu/g, respectively. The mean number of *S. aureus* was higher for OT than for CT (Table 2). There were 20 % of CT samples and 32 % of OT samples with *S. aureus* counts between $10^2 \div 10^3$ cfu/g. Approximately one-third of the tested products were contaminated with fungi. A statistical analysis showed no statistically significant differences between the origin of tofu and the total counts of fungi ($z = -0.22$; $p = 0.8293$) or *S. aureus* ($z = -0.57$; $p = 0.5673$). The highest level of fungi ($1.2 \div 4.8 \cdot 10^2$ cfu/g) was found in 8 % of the OT samples. For CT, the highest levels of fungi were lower and did not exceed 10^2 cfu/g. In 90 % of the analyzed tofu, the presence of AMC was found at levels ranging from 10^1 to $6.2 \cdot 10^3$ cfu/g. In 40 % of CT samples, only the presence of mesophilic microorganisms was observed, while for OT, the percentage of samples with only AMC was slightly lower (36 %). In the case of the second group of tofu, 4 % of the samples were free from any microorganisms. In 14 % of the analyzed tofu, AMC was found at levels $>10^3$ cfu/g (Fig. 1). The statistical analysis revealed significant differences in the total counts of mesophilic bacteria contaminating tofu depending on their origin ($z = -2.34$; $p = 0.0191$) (Fig. 2). Among the results obtained for CT, 25 % of the samples were characterized by results equal to or higher than $1.1 \cdot 10^2$ cfu/g. The degree of contamination of OT with the total number of microorganisms was higher because 25 % of the samples were characterized by results equal to or higher than $5.4 \cdot 10^2$ cfu/g.

Discussion

Plant-based products are an essential part of a human diet. It is predicted that organically grown fruit and vegetables contain fewer contaminants compared to their conventional counterparts [5]. The statistical analysis showed no statistically significant differences between the origin of tofu and the total counts of fungi ($p = 0.8293$) or *S. aureus* ($p = 0.5673$). Also, available data indicates no differences in contamination

levels of organic and conventional dairy products, including bacteria such as *E. coli* and *S. aureus* [14, 28]. The high water and protein content of tofu makes it susceptible to bacterial spoilage [10]. However, in the food industry, cleaning and sanitation procedures are important to prevent environmental contamination of products and to prevent the presence and proliferation of pathogenic and saprophytic microorganisms [29]. In all tested tofu samples, the presence of *E. coli* was not detected. Similar results for total coliforms and *E. coli* were reported by Nazim et al [17] and El-Hadidi [3] during soy cheese storage. Smith-Spangler et al [28] demonstrated that *E. coli* occurred in 7 % of organic products and 6 % of conventional ones, suggesting that the former group is more susceptible to contamination due to the use of natural manure fertilizer. Additionally, poor personal hygiene among workers, along with the use of unclean devices, can contribute to the presence of *E. coli* [10, 22]. However, aerobic composting of manure effectively reduces or eliminates initial pathogenic microorganisms such as *Salmonella enteritidis* or *E. coli* [14]. Ananchaipattana et al. [2] found *E. coli* and *Staphylococcus* spp. contamination in 28 % and 26 % of tested tofu samples, respectively. In our own research, a twofold higher number of samples contaminated with *S. aureus* was observed. Ribeiro et al. [24] obtained results exceeding 10^4 cfu/g for *S. aureus* in their studies, while Kukulowicz and Pryczkowska [12] showed staphylococcal presence ranging from $0 - 2.2 \cdot 10^4$ cfu/g. As determined in the literature, acceptable limits for *S. aureus* in tofu should be accepted if lower than $10^2 \div 10^3$ cfu/g [8, 20]. In our own research, the highest levels of *S. aureus* did not exceed 10^3 cfu/g. The presence of *Staphylococcus* spp. in products may be due to improper hygiene practices during production or improper storage conditions [2]. The mesophilic aerobic bacteria counts in the tested tofu ranged from $0 \div 6.2 \cdot 10^3$ cfu/g and did not exceed the quality standards for soy products (max $2.0 \cdot 10^4$ cfu/g) [4]. These results were lower than those obtained by Ribeiro et al [24], who found AMC levels above $4.3 \cdot 10^5$ cfu/g. Poudel [21] obtained results over 1 log cycle higher than Ribeiro et al [24] after storing tofu in refrigerated conditions for six days. Nazim et al [17] found AMC presence below 10 cfu/g two months after tofu production, while El-Hadidi [3] found these microorganisms at a level of $3.0 \cdot 10^3$ cfu/g after four weeks of tofu storage. Available data suggests that during subsequent tofu production stages (adding water, grinding, coagulation, molding, etc.), conditions conducive to natural microorganism growth are created [24]. Literature sources also state that the number of microorganisms in tofu can be controlled by using modified atmosphere packaging, which maintains optimal conditions for longer freshness and prevents bacterial growth [21]. In our research, the presence of yeast and mold counts was detected in 30 % of the tested tofu cheeses. Nazim et al [17] found yeast and mold counts below 10 cfu/g two months after tofu production, while El-Hadidi [3] found these microorganisms at a level of $2.5 \cdot 10^2$ cfu/g after four weeks of tofu storage. In our own research, only 8 % of OT samples exceeded the

quality standards (10^2 cfu/g) for soy products [4]. Ndife et al. [18] found YMC in tofu with various additives in a slightly lower range than El-Hadidi [3], ranging from $10 \div 5.5 \cdot 10^1$ cfu/g. Microorganisms such as bacteria, mold and yeast play significant roles in soybean fermentation and may be present in raw materials used for tofu production, such as soybeans, water and other ingredients. Additionally, mold can infiltrate tofu during the production process, especially in environments lacking sufficient hygiene. In some cases, mold may also develop during tofu storage, particularly if stored under improper conditions like high humidity or temperature. However, unwanted or harmful metabolites from mold (mycotoxins) can be released into the food during fermentation [3, 31].

Conclusion

1. Despite the absence of detectable *E. coli* and *S. aureus* counts not exceeding 10^3 cfu/g in the tested products, Good Manufacturing Practices (GMP) and maintaining appropriate hygiene standards are essential for achieving high-quality tofu and ensuring food safety.
2. It is also important to emphasize the need to raise public awareness about proper tofu storage and hygienic handling to minimize the risks associated with potential microbiological hazards and ensure safe consumption.

Acknowledgements

The research was financed via the funds allocated to the UMG departments for research activities under project number WZNJ/2024/PZ/01.

References

- [1] Afolabi F.T., Onilude A.A., Babade F.M.: Improvement of the production process and nutritional quality of Nigerian tofu (Beske) through fermentation. *Ann. Food Sci. Technol.*, 2017, 18(3), 521-530.
- [2] Ananchaipattana C., Hosotani Y., Kawasaki S., Pongswat S., Latiful B.M., Isobe S., Inatsu Y.: Bacterial contamination of soybean curd (tofu) sold in Thailand. *Food Sci. Technol. Res.*, 2012, 18(6), 843-848.
- [3] El-Hadidi S.T.: Processing and quality of Lupin Tofu. *Curr. Sci. Int.*, 2017, 6(4), 930-939.
- [4] Gandhi A.P.: Quality of soybean and its food products - Review Article. *Int. Food Res. J.*, 2009, 16, 11-19.
- [5] Giampieri F., Mazzoni L., Cianciosi D., Alvarez-Suarez J.M., Regolo L., Sánchez-González C., Capocasa F., Xiao J., Mezzetti B., Battino M.: Organic vs conventional plant-based foods: A review. *Food Chem.*, 2022, 383, #132352.

- [6] Global Soybean Supply and Demand & 2024 Expectations. 16 January 2024, Dostęp w Internecie [5.03.2024]: <https://www.feedandadditive.com/global-soybean-supply-and-demand-2024-expectations/>
- [7] Góralczyk K.: Isorganic food really the best? (Czy żywność ekologiczna rzeczywiście jest najlepsza? – in Polish). *Studia Ecologiae et Bioethicae*, 2018, 16(4), 51-56
- [8] GSO 1016, 2015. Microbiological Criteria for Foodstuffs. GCC Standardization Organization.
- [9] Halagarda M., Ptasinska-Marcinkiewicz J., Fijorek K.: A comparison of mineralelements content in conventional and organic milk from Southern Poland. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2018, 25(1), 137-150.
- [10] Juliana N., Megasari W.O., Nur N.H.: Hygiene of sanitation and quality soaking water of tofu: a case study of the household industry UD Sari Makmur, Wakobalu Agung Village. *South Asian Res. J. Nurs. Health Care*, 2021, 3(6), 90-95.
- [11] Kim I. S.: Current perspectives on the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites for humans. *Antioxidants*, 2021, 10(7), #1064.
- [12] Kukulowicz A., Pryczkowska E.: Microbiological quality of different type of tofu. *Scientific Journal of Gdynia Maritime University*, 2017, 99, 56-61.
- [13] Kwiatkowska E.: Fitoestrogeny w zapobieganiu osteoporozie. *Przegląd Menopauzalny*, 2007, 5, 306-309.
- [14] Lairon D.: Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 2010, 30(1), 33-41.
- [15] Malinowski L., Kowczyk-Sadowy M., Obidzinski S., Krasowska M., Dolzynska M.: The organic and conventional food and ways of its marking. *Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna*, 2019, 4, 17-20.
- [16] Malissiova E., Tsokana K., Soultani G., Alexandraki M., Katsioulis A., Manouras A.: Organic food: A Study of consumer perception and preferences in Greece. *Appl. Food Res.*, 2022, 2(1), #100129.
- [17] Nazim M.U., Mitra K., Rahman M.M., Abdullah A.T.M., Parveen S.: Evaluation of the nutritional quality and microbiological analysis of newly developed soya cheese. *Int. Food Res. J.*, 2013, 20(6), 3373-3380.
- [18] Ndife J., Imade I., Ubbor S.: Production and quality evaluation of soycheese (tofu) using selected coagulants. *JSAE*, 2019, 17(2), 212-224.
- [19] Pal M., Ayele Y., Devrani M.: Tofu: A popular food with high nutritional and health benefits. *Food Bever. Proces.*, 2019, 54-55.
- [20] Park K.-M., Kim H.-J., Park K.-J., Koo M.: Toxigenic potential of mesophilic and psychrotolerant *Bacillus cereus* isolates from chilled tofu. *Foods*, 2022, 11(12), #1674.
- [21] Poudel B.: Effect of incorporation of sesame seed in the quality of tofu. Doctoral dissertation, Department of Food Technology Central Campus of Technology Institute of Science and Technology Tribhuvan University, Nepal, 2022.
- [22] Purnamasari S., Semariyani A.A.M., Rudianta I.N., Candra I.P., Sudiarta I.W.: The safety of tofu food produced in klungkungregency in terms of chemical and microbiological aspects. *Sustain. Envir. Agr. Sci.*, 2019, 3(2), 82-88.
- [23] Rekha C. R., Vijayalakshmi G.: Influence of processing parameters on the quality of soy curd (tofu). *J. Food Sci. Technol.*, 2013, 50(1), 176-180.
- [24] Ribeiro T.T.B.C, Costa G., Costa M.: Microbial contamination in industrial tofu. *Ciência Rural*, 2017, 47(3), 1-6.
- [25] Rolnictwo ekologiczne – szanse i zagrożenia dla producentów żywności. Co się zmieniło w 2022 roku? 15 stycznia 2022, Dostęp w Internecie [5.03.2024]: <https://bezpieczenstwozywnosci.wip.pl/>

- nr-39-luty/rolnictwo-ekologiczne-szanse-i-zagrozenia-dla-producentow-zywnosci.-co-sie-zmienilo-w-2022-roku-4017.html
- [26] Sazońska B., Sambor K., Gajewska M., Stachowicz T., Krysztoforski M., Litwinow A., Pomykała D., Gradka I.: Gospodarowanie ekologiczne– co każdy rolnik wiedzieć powinien? Materiały szkoleniowe dla rolników posiadających certyfikowane gospodarstwa ekologiczne. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, Radom 2021.
- [27] Shalini K.V., Sanjitha S., Santhiya S., Vasuki V., Senthil K.: An overview of tofu: history, types, manufacturing process and health benefits. *J. Univ. Shanghai Sci. Technol.*, 2021, 23(10), 505-514.
- [28] Smith-Spangler C., Brandeau M.L., Hunter G.E., Bavinger C.J., Pearson M., Eschbach P.J., Sundaram V., Liu H., Schirmer P., Stave C., Olkin I., Bravata D.M.: Are organic foods safer or healthier than conventional alternatives?: A Systematic Review. *Ann. Intern. Med.*, 2012, 157 (5), 348-366.
- [29] Sogin J.H., Lopez-Velasco G., Yordem B., Lingle C.K., David J.M., Çobo M., Worobo R.W.: Implementation of ATP and microbial indicator testing for hygiene monitoring in a tofu production facility improves product quality and hygienic conditions of food contact surfaces: A case study. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2021, 87(5), e02278-20.
- [30] System kontroli produktów ekologicznych został udoskonalony, lecz niektóre wyzwania wciąż są aktualne. Europejski Trybunał Obrachunkowy, Unia Europejska, Luksemburg, 2019, 04.
- [31] Tian F., Woo S.Y., Lee S.Y., Park S.B., Im J.H., Chun H.S.: Mycotoxins in soybean-based foods fermented with filamentous fungi: Occurrence and preventive strategies. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2022, 21(6), 5131-5152.
- [32] The Global Demand for Soy Products. 2023, Manitoba, Dostęp w Internecie [6.03.2024]: <https://www.manitoba.ca/agriculture/markets-and-statistics/trade-statistics/pubs/the-global-demand-for-soy-products-2.pdf>


BEZPIECZNA SOJA: STARCIE MIKROBIOLOGICZNE MIĘDZY TOFU EKOLOGICZNYM A KONWENCJONALNYM

Streszczenie

Wprowadzenie: Światowe zapotrzebowanie na soję i produkty sojowe stale rośnie, a prognozy wskazują na dalszy wzrost produkcji tego surowca. Mimo że soja jest głównie wykorzystywana jako pasza dla zwierząt, jej spożycie wśród konsumentów wzrasta. Zarówno rolnictwo ekologiczne, jak i tradycyjne, dążą do tego samego celu – wytwarzania produktów żywnościowych. Zgodnie z obowiązującym prawem Unii Europejskiej, wszelka żywność dostępna na rynku, nie tylko ta oznaczona jako organiczna, musi być bezpieczna i zapewniać właściwe wartości odżywcze. Produkty sojowe, takie jak tofu, są podatne na rozwój mikroorganizmów ze względu na ich wysoką zawartość wody i białka, co stwarza zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Celem badań było porównanie jakości mikrobiologicznej tofu ekologicznego oraz konwencjonalnego. Badania obejmowały określenie ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby grzybów, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*.

Wyniki i wnioski: W badanych próbkach tofu nie stwierdzono obecności *E. coli*, natomiast w ponad połowie badanych próbek tofu wykryto występowanie *S. aureus*, przy max. $5.4 \cdot 10^2$ cfu/g. Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała istotnych statystycznie różnic między pochodzeniem tofu a ogólną liczbą grzybów ($p = 0,8293$) oraz *S. aureus* ($p = 0,5673$), natomiast ujawniła istotne różnice w ogólnej liczbie drobnoustrojów mezofilnych zanieczyszczających tofu w zależności od ich pochodzenia ($p = 0,0191$). W szczególności stwierdzono wyższą liczbę tych drobnoustrojów w próbkach tofu ekologicznego ($7.8 \cdot 10^2$ cfu/g) w porównaniu do konwencjonalnego ($1.7 \cdot 10^2$ cfu/g). Najwyższy poziom grzy-

bów ($1.2 \div 4,8 \cdot 10^2$ cfu/g) stwierdzono w przypadku 8 % próbek tofu ekologicznego. Uzyskane wyniki podkreślają znaczenie utrzymania odpowiednich standardów higieny podczas produkcji i przechowywania tofu, aby zapewnić bezpieczeństwo żywności dla konsumentów.

Słowa kluczowe: tofu, produkt ekologiczny, produkt konwencjonalny, bezpieczeństwo żywności, zanieczyszczenie mikrobiologiczne 

MARTA POPIELARCZYK, MARTA CZARNOWSKA-KUJAWSKA,
BEATA PASZCZYK, MAŁGORZATA STAROWICZ

WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE, PRZECIWUTLENIAJĄCE I SENSORYCZNE NAPOJU SOJOWEGO TYPU KOMBUCHA

Streszczenie

Wprowadzenie. Fermentacja z użyciem kultury SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts) i powstałe w ten sposób napoje typu kombucha stale zyskują na popularności z uwagi na atrakcyjne cechy sensoryczne, a także potencjalnie wyższą zawartość składników bioaktywnych. W doświadczeniu poddano fermentacji z użyciem kombuchy napój sojowy. Celem badawczym była ocena wybranych właściwości prozdrowotnych otrzymanego napoju po fermentacji w oparciu o jego aktywność przeciwutleniającą, profil kwasów tłuszczowych, zawartość wybranych składników mineralnych, a także właściwości sensorycznych.

Wyniki i wnioski. Wykazano istotny statystycznie ($p < 0,05$) wzrost właściwości przeciwutleniających mierzonych testami PCL i DPPH^{*}, porównując napój sojowy przed fermentacją i po niej. Zmiany po fermentacji zaobserwowano także w profilu kwasów tłuszczowych, do ich zbadania wykorzystano metody Folcha, IDF oraz GC-FID. Odnotowano istotne obniżenie ($p < 0,05$) sumarycznej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) oraz istotny wzrost ($p < 0,05$) zawartości monoenowych kwasów tłuszczowych (MUFA). Składniki mineralne oznaczono techniką emisji płomieniowej acetylen-powietrze, przy użyciu płomieniowego spektrometru absorpcji atomowej oraz spektrofotometru VIS 6000. Napój sojowy po fermentacji charakteryzował się istotnie niższą ($p < 0,05$) zawartością składników mineralnych, takich jak Cu, Fe, Zn, Mg, Ca, Na, P. Istotnie wyższa ($p < 0,05$) była jedynie zawartość Mn. Analizę sensoryczną przeprowadził 10-osobowy zespół oceniających o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej metodą profilowania różnicowego z użyciem skali liniowej dwubiegunowej w porównaniu z próbką standardową (napoju niepoddanego fermentacji). Fermentowany napój sojowy zyskał bardziej intensywny smak oraz zapach, a także bardziej gęstą przypominającą jogurt konsystencję.

Słowa kluczowe: kombucha, napój sojowy, kwasy tłuszczowe, aktywność antyoksydacyjna, składniki mineralne

Inż. M. Popielarczyk; dr inż. M. Czarnowska-Kujawska ORCID: 0000-0003-1547-2409, dr inż. B. Paszczyk ORCID: 0000-0003-1773-9357, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie, Plac Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn; dr M. Starowicz ORCID: 0000-0001-6053-2250, Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn. Kontakt: email: m.popielarczyk@student.uwm.edu.pl

Wprowadzenie

Kombucha to słodzona herbata, tradycyjnie czarna lub zielona, fermentowana przy użyciu kultury SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts). Napój wciąż zyskuje na popularności dzięki swoim potencjalnym właściwościom antyoksydacyjnym, antynowotworowym, przeciwdrobnoustrojowym, czy przeciwzapalnym, a także zdolności do obniżania poziomu cholesterolu i zmniejszenia ryzyka występowania chorób neurodegeneracyjnych [1, 10, 16, 30]. Napój kombucha został uznany w 2018 roku za najpopularniejszy niskoalkoholowy napój fermentowany na świecie [19], którego wartość sprzedaży na rynku w 2021 roku wynosiła aż 2,6 biliona dolarów [11]. Kultura SCOBY przyjmuje postać galaretowatej celulozowej struktury, unoszącej się na powierzchni napoju [18]. W skład kultury symbiotycznej wchodzi, między innymi, bakterie kwasu octowego, bakterie kwasu mlekowego oraz drożdże [13, 29]. Pozytywny wpływ na zdrowie człowieka wynika nie tylko z obecności w fermentowanych napojach mikroorganizmów, ale także z ich aktywności metabolicznej podczas fermentacji takich składników, jak związki fenolowe, witaminy (B, C) czy kwasy organiczne. Korzystna jest również aktywność probiotyczna mikroorganizmów oraz obecność enzymów mikrobiologicznych i białek [1, 10, 16, 22, 30].

Bardzo istotny jest sam proces fermentacji, który ma szczególny wpływ na zawartość w gotowym produkcie związków, które wykazują korzystne oddziaływanie na funkcjonowanie organizmu. Wykazano, że przebieg procesu fermentacji może wpływać na koncentrację kwasów fenolowych odpowiedzialnych za aktywność przeciwutleniającą. Udowodniono, że napój kombucha posiada wysoki potencjał antyoksydacyjny, zależny od czasu fermentacji oraz pochodzenia, co może mieć związek z cechami prozdrowotnymi napoju [6, 10, 16]. Dodatkowo stwierdzono, iż w herbatach zielonych po fermentacji zwiększyła się zawartość kwasów fenolowych, natomiast zmniejszyła – zawartość flawonoidów [10]. Ponadto udowodniono pozytywną korelację między całkowitą zawartością polifenoli, a aktywnością przeciwutleniającą wobec wolnych rodników DPPH dla czerwonych i zielonych herbat [16]. Generalnie stwierdza się, że parametry, takie jak: czas i warunki fermentacji, rodzaj i skład surowców użytych do produkcji napojów, skład mikrobiologiczny, a nawet lokalizacja, w której prowadzony jest eksperyment, mają wpływ na aktywność metaboliczną kultury SCOBY w fermentowanym napoju kombucha, a w związku z tym na różnorodność i bogactwo jego składu [18].

Dlatego prowadzone są badania nad nowymi napojami fermentowanymi z użyciem SCOBY, w których nie tylko herbata jest surowcem do ich produkcji [30]. W ostatnich latach badacze podejmowali próby fermentowania kulturą SCOBY, m.in., naparów ziołowych, soków owocowych, wina, kawy, serwatki, a nawet mleka krowiego, czy napoju typu *Coca-Cola*, otrzymując nowe napoje o zmienionych cechach sensorycznych, fizykochemicznych i prozdrowotnych [1, 24]. Ciekawym przykładem jest

wykorzystanie naparu kombucha do fermentacji mleka. Vitas i wsp. [27] wykazali, że rodzaj użytego starteru wpływał na zawartość przeciwutleniaczy w fermentowanym napoju mlecznym. Dodatkowo napój po fermentacji odznaczał się wyższą zawartością witaminy C, co wskazuje na zdolność kultury SCOBY do syntetyzowania tej witaminy [27].

W związku z powyższym, celem badań była ocena wybranych właściwości prozdrowotnych, w tym aktywności przeciwutleniającej, profilu kwasów tłuszczowych, zawartości składników mineralnych i jakości sensorycznej fermentowanego kulturą startową SCOBY napoju sojowego.

Material i metody badań

Materiały i odczynniki

Materiały potrzebne do wyprodukowania napoju sojowego typu kombucha (napój sojowy, zielona herbata liściasta, cukier) zostały zakupione w lokalnym sklepie w Olsztynie. Kulturę startową SCOBY pozyskano ze sklepu internetowego (z siedzibą w Łodzi), prowadzącego własną hodowlę i specjalizującego się sprzedażą starterów mikrobiologicznych.

Do wykonania metody fotochemiluminescencyjnej (ang. Photochemiluminescence, PCL) zakupiono zestawy do badania przeciwutleniaczy rozpuszczalnych w wodzie (water-soluble antioxidants, ACW) i rozpuszczalnych w lipidach (lipid-soluble antioxidants, ACL) z firmy Analytik Jena (Jena, Niemcy), natomiast 2,2'-difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH) i Troloks (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) dostarczono z firmy Sigma Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Wzorce estrów metylowych kwasów tłuszczowych zakupiono od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) i Supelco (Bellefonte, PA, USA). Uwodniony chlorek lantanu ($\text{Cl}_3\text{La} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) do oznaczania zawartości składników mineralnych zakupiono w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy), natomiast molibdenian amonu(VI), siarczan sodu(IV) i hydrochinon zakupiono w firmie „POCH” SA (Gliwice, Polska).

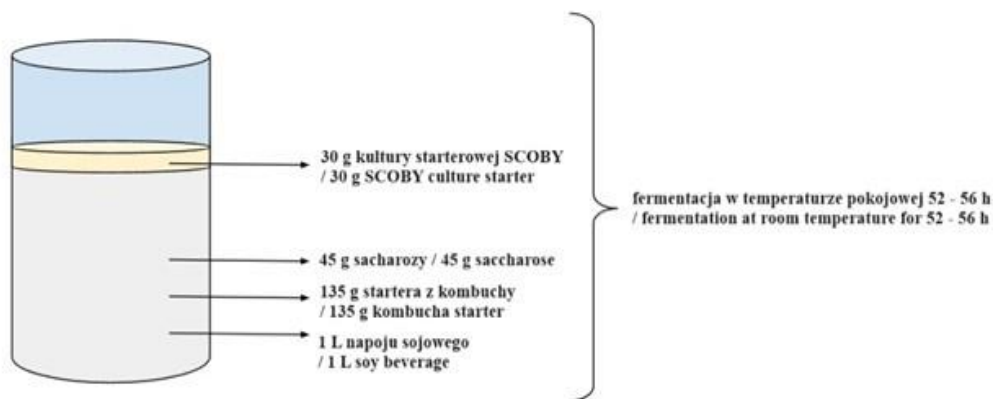
Pozostałe odczynniki użyte w doświadczeniach odznaczały się co najmniej czystością analityczną i zostały zakupione w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy) oraz „POCH” S.A. (Gliwice, Polska).

Produkcja fermentowanego napoju sojowego typu kombucha

W pierwszym etapie przygotowano napar kombucha z zielonej herbaty, który wykorzystano później jako starter przy fermentacji napoju sojowego. Do przygotowanego wcześniej naczynia odmierzone 10 g zielonej liściastej herbaty i zalano 1 dm³ gorącej wody. Napar odcedzono po 5 minutach i dosłodzono 80 g sacharozy. Gdy napar osiągnął temperaturę pokojową, wprowadzono kulturę SCOBY i herbatę kombucha z innego nastawu. Naczynie przykryto materiałem przepuszczającym powietrze, chro-

niącym przed zanieczyszczeniami oraz owadami. Napój pozostawiono do fermentacji na 7 dni w temperaturze pokojowej. Po tym czasie barwa naparu zmieniła się na jaśniejszą, zauważalne były pęcherzyki powietrza. Na całej powierzchni styku płynu z powietrzem pojawiła się nowa struktura SCOBY.

W kolejnym etapie przeprowadzono fermentację napoju sojowego (Ryc. 1). Przygotowano naczynia, do których odmierzone po 1 dm³ napoju sojowego, dodano 45 g sacharozy i 135 g naparu kombucha z wcześniejszego etapu i całość mieszano do rozpuszczenia cukru. Następnie dodano 30 g kultury SCOBY, używanej w poprzednim etapie do fermentacji zielonej herbaty. Naczynie przykryto materiałem przepuszczającym powietrze i pozostawiono w temperaturze pokojowej do osiągnięcia pH powyżej 4 – pomiaru dokonano przy pomocy pH-metru ręcznego (HI98100, Hanna Instruments; Woonsocket, USA). Gotowe produkty zostały poddane ocenie sensorycznej oraz analizie składu chemicznego.



Rycina 1. Sposób przygotowania napoju sojowego fermentowanego z użyciem kultury SCOBY i starteru w postaci naparu kombucha z zielonej herbaty

Figure 1. Preparation of soy-based fermented beverage using SCOBY culture and green tea kombucha as a starter

Analiza aktywności antyoksydacyjnej

Do określenia zdolności wychwytywania anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$) przez napoje typu kombucha wykorzystano metodę fotochemiluminescencji (PCL). Analizę przeprowadzono przy użyciu aparatu Photochem® (Analytik Jena, Jena, Niemcy) na podstawie metodyki opracowanej przez Zielińskiego i wsp. [29]. Próbkę rozcieńczono metanolem w metodzie ACL lub buforem w przypadku ACW. Jako standard stosowano Troloks ($R^2 = 0,9942$ w metodzie ACW; $R^2 = 0,9899$ – ACL). Wyniki obliczono jako μmol równoważnika Troloks/cm³ próbki.

Określono również zdolność napojów kombucha do wychwytywania stabilnego rodnika DPPH^{*}, poprzez pomiar absorbancji za pomocą czytnika mikroplitek (Infinite

M1000 Pro Multimode Microplate Reader, Tecan, Austria). Procedurę DPPH^{*} zaczerpnięto z badań Horszwald i Andlauer [13]. W celu pomiaru 20 μL odpowiednio rozcieńczonej próbki, próby ślepej lub standardu (Troloks) dodano do 300 μL roztworu DPPH^{*} (absorbancja wynosi około 0,958 przy 517 nm). 80-procentowy metanolowy roztwór DPPH^{*} przygotowano świeżo przed analizą. Absorbancję mierzono przy długości fali 517 nm po uprzedniej inkubacji mieszaniny w temperaturze pokojowej i ciemności przez 30 minut. Wyznaczono krzywą kalibracyjną dla Troloksu ($R^2 = 0,994$) a wyniki przeliczono na mg równoważnika Troloksu/100 cm^3 próbki.

Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych

W celu określenia składu kwasów tłuszczowych z badanych napojów wydzielono tłuszcz metodą Folcha [21]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowano zgodnie z metodą Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej (IDF) [14]. Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczono metodą GC-FID. W tym celu wykorzystano chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID, kolumnę kapilarną 100 m, średnicą wewnętrzną 0,25 mm o grubości filmu 0,20 μm (Chrompack, Middelburg, Holandia), z fazą stacjonarną CPSil 88. Warunki rozdzielania były następujące: temperatura kolumny od 60 $^{\circ}\text{C}$ (przez 1 min) do 180 $^{\circ}\text{C}$, przyrost temperatury $\Delta t = 5$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$; temperatura detektora: 250 $^{\circ}\text{C}$; temperatura dozownika: 225 $^{\circ}\text{C}$; gaz nośny: hel, prędkość przepływu: 1,5 mL/min , split 50:1. Poszczególne kwasy tłuszczowe zidentyfikowano poprzez porównanie pików względnego czasu retencji ze znanymi standardami Sigma i Supelco oraz na podstawie danych literaturowych. Metodę szczegółowo opisano w pracy Czarnowskiej Kujawskiej i Paszczyk [7, 8].

Oznaczanie zawartości składników mineralnych

Zawartość poszczególnych składników mineralnych oznaczono metodą opisaną wcześniej przez Klepacką i wsp. [20] oraz Czarnowską-Kujawską i wsp. [8, 9]. Sód (Na) i potas (K) oznaczono techniką emisji płomieniowej acetylen-powietrze (spektrometr absorpcji atomowej Thermo iCE 3000 Series, Waltham, MA, USA., wyposażony w lampę deuterową jako korektę tła i odpowiednie lampy katodowe). Oznaczenia miedzi (Cu), manganu (Mn), żelaza (Fe), cynku (Zn), magnezu (Mg) i wapnia (Ca) wykonano przy użyciu płomieniowego spektrometru absorpcji atomowej (Thermo iCE 3000 Series; Madison, WI, USA). Parametry urządzeń (powietrze, acetylen, optyka i elektronika) zostały dostosowane do osiągnięcia maksymalnej absorpcji dla każdego pierwiastka. Pomiar przeprowadzono przy następujących długościach fal: Na (589,0 nm), K (766,5 nm), Cu (324,8 nm), Mn (279,5 nm), Fe (248,3 nm), Zn (213,9 nm), Mg (285,2 nm) i Ca (422,7 nm). Oznaczanie zawartości fosforu (P) przeprowadzono metodą kolorymetryczną z molibdenianem (VI) amonu, siarczanem (IV) sodu i hydrochinonem. Molibdenian (VI) amonu przekształcono w fosfomolibdeniany,

które następnie zredukowano do błękitu fosfomolibdenowego przy użyciu siarczanu (IV) sodu i hydrochinonu. Analizę przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru VIS 6000 (KRÜSS-OPTRONIC, Hamburg, Niemcy) ustawionego na 610 nm.

Analiza sensoryczna

Ocena sensoryczna napoju sojowego po fermentacji została przeprowadzona metodą profilowania różnicowego z użyciem skali liniowej dwubiegunowej w porównaniu z próbką standardową [2], czyli napojem niepoddanym fermentacji. Oceniano następujące wyróżniki jakości sensorycznej: barwę (jaśniejsza/ ciemniejsza w porównaniu ze standardem), konsystencję (mniej gęsta/ bardziej gęsta w porównaniu ze standardem), smak (mniej intensywny/ bardziej intensywny od standardu) oraz zapach (mniej intensywny/ bardziej intensywny od standardu). Ocenę sensoryczną przeprowadził 10-osobowy zespół oceniających o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej w pracowni analizy sensorycznej spełniającej wymagania normy – PN-EN ISO 8589:2010 [25]. Wyniki przedstawiono jako średnie arytmetyczne ocenianych cech sensorycznych na wykresie radarowym (Wykres 1).

Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnią \pm odchylenie standardowe z trzech powtórzeń. Poziom istotności statystycznej różnic pomiędzy średnimi analizowano metodą jednoczynnikowej analizy ANOVA oraz testem Duncana przy użyciu oprogramowania Statistica w wersji 13.2 (StatSoft; Kraków, Polska).

Wyniki i dyskusja

Ocena pH i aktywności przeciwutleniającej

Wartość pH napoju sojowego przed fermentacją była neutralna (6,5). Tak jak wykazano we wcześniejszych badaniach nad napojami mlecznymi oraz napojami pochodzenia roślinnego typu kombucha [24, 28], wraz z czasem fermentacji maleje wartość pH. Po upływie 56 h fermentacji napoju sojowego wartość pH wynosiła 4,11.

W celu pomiaru aktywności przeciwutleniającej napojów sojowych wykorzystano metodę fotochemiluminescencji (PCL) mierzącą zdolność hydrofilowych i lipofilowych przeciwutleniaczy do wychwytywania generowanych przez aparat PHOTOCHEM[®] anionorodników ponadtlenkowych ($O_2^{\cdot-}$). Obliczono również wartości PCL, będącego sumą wyników dla pomiarów ACW i ACL (Tabela 1). W uzyskanych badaniach wyższe wartości zdolności do wychwytywania rodników $O_2^{\cdot-}$ stwierdzono w napoju sojowym po procesie fermentacji. Odnotowano istotny statystycznie wzrost ($p < 0,05$) wartości ACW (około 2,6-krotny). Porównywalny wzrost właściwości przeciwutleniających uzyskano dla napoju herbacianego przed fermentacją i po niej [15]. Z kolei dla testu ACL zaobserwowano 10-procentowy wzrost wartości przeciwutlenia-

jących ($p < 0,05$). Sumaryczny PCL wzrósł z wartości 5,21 dla napoju przed fermentacją do 9,37 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ po fermentacji (wzrost o 55 %). Badany fermentowany napój sojowy wykazywał w testach ACW i ACL wyższą aktywność przeciwutleniającą niż napój kombucha przygotowywany na bazie herbaty zielonej czy też białej [16].

Tabela 1. Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodami PCL i DPPH

Table 1. Antioxidant activity measured by PCL and DPPH methods

Próbki / Samples	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
ACW [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3$]	2,29 ^b ± 0,15	6,09 ^a ± 0,46
ACL [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3$]	2,92 ^a ± 0,19	3,27 ^a ± 0,14
PCL (ACW+ACL) [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3$]	5,21 ^b ± 0,34	9,37 ^a ± 0,60
DPPH [mg/100 cm^3]	5,36 ^b ± 0,07	12,55 ^a ± 0,40

Objaśnienia / Explanatory notes:

ACW: przeciwutleniacze rozpuszczalne w wodzie / water-soluble antioxidants; ACL: przeciwutleniacze rozpuszczalne w tłuszczach / lipid-soluble antioxidants. Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń ± odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) zgodnie z testem Duncan / Results are presented as averages of three replicates ± standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ($p < 0,05$) according to Duncan's test.

Do pomiaru aktywności przeciwutleniającej napoju sojowego wykorzystano również test zdolności wychwytywania rodników DPPH (Tabela 1). Dla napoju sojowego przed fermentacją wartość DPPH wyniosła 5,36 mg/100 mL. Zaobserwowano istotny statystycznie wzrost ($p < 0,05$) zdolności przeciwutleniających po procesie fermentacji. Według testu DPPH, aktywność przeciwutleniająca wzrosła ponad dwukrotnie. Wyniki te są zgodne z wynikami Tu i wsp. [26], którzy udowodnili, że fermentacja serwatki sojowej znacznie wpłynęła na wzrost aktywności przeciwutleniającej. Wzrost aktywności przeciwutleniającej związany jest zarówno z przeprowadzonym procesem fermentacji, jak również z zastosowaniem naparu zielonej herbaty, będącym jednocześnie bogatym źródłem związków bioaktywnych [16]. Uzyskane wyniki wskazują na otrzymanie fermentowanego napoju o podwyższonych właściwościach przeciwutleniających, co za tym idzie, o wysokim potencjale prozdrowotnym.

Analiza kwasów tłuszczowych

Zmiany zawartości kwasów tłuszczowych w napoju sojowym i napoju sojowym po fermentacji grzybkami herbacianymi przedstawiono w Tabeli 2. Przeprowadzone badania wykazały, że fermentacja spowodowała istotny ($p < 0,05$) spadek sumarycznej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) z 315,24 mg/100 g do

301,46 mg/100 g. W tej grupie kwasów istotny spadek zaobserwowano w przypadku kwasów C12:0, C14:0 oraz C16:0. Proces fermentacji spowodował istotny ($p < 0,05$) wzrost zawartości monoenowych kwasów tłuszczowych (MUFA). Sumaryczna zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w napoju sojowym wynosiła 327,89 mg/100 g, a w napoju sojowym po fermentacji – 340,01 mg/100 g. W tym przypadku największe zmiany zaobserwowano w zawartości kwasu oleinowego C18:1 *cis*9. Zawartość tego kwasu w napoju sojowym wynosiła 297,45 mg/100 g, w napoju sojowym po fermentacji była istotnie wyższa ($p < 0,05$), 309,02 mg/100 g.

Tabela 2. Wpływ procesu fermentacji na zawartość kwasów tłuszczowych w analizowanych napojach
Table 2. Effect of fermentation process on the content of fatty acids in tested beverages

Kwasy tłuszczowe / Fatty acids	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
	[mg/100 g]	
C12:0	1,85 ^a ± 0,09	0,69 ^b ± 0,16
C14:0	3,04 ^a ± 0,13	1,59 ^b ± 0,03
C16:0	221,44 ^a ± 2,42	211,06 ^b ± 1,02
C16:1	1,26 ^a ± 0,03	1,31 ^a ± 0,06
C17:0	2,08 ^a ± 0,05	1,96 ^a ± 0,10
C17:1	0,66 ^a ± 0,01	0,84 ^a ± 0,13
C18:0	74,82 ^a ± 0,15	73,96 ^a ± 0,08
C18:1 <i>cis</i> 9	297,45 ^b ± 0,60	309,02 ^a ± 0,47
C18:1 <i>cis</i> 11	25,94 ^a ± 0,28	26,39 ^a ± 0,47
C18:1 <i>cis</i> 13	0,83 ^a ± 0,08	0,62 ^a ± 0,10
C18:2	967,22 ^a ± 0,80	968,20 ^a ± 0,98
C20:0	6,04 ^a ± 0,21	6,08 ^a ± 0,14
C20:1	1,74 ^a ± 0,03	1,83 ^a ± 0,10
C18:3	152,85 ^b ± 0,20	153,53 ^a ± 0,18
C22:0	5,98 ^a ± 0,35	6,12 ^a ± 0,05
Σ SFA	315,24 ^a ± 1,94	301,46 ^b ± 0,74
Σ MUFA	327,89 ^b ± 0,96	340,01 ^a ± 0,74
Σ PUFA	1120,07 ^a ± 0,99	1121,73 ^a ± 0,83

Objaśnienia/ Explanatory notes:

Σ SFA – sumaryczna zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych / total saturated fatty acid content; Σ MUFA – sumaryczna zawartość monoenowych kwasów tłuszczowych / total content of monoenic fatty acids; Σ PUFA – sumaryczna zawartość polienowych kwasów tłuszczowych / total polyene fatty acid content. Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń ± odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) zgodnie z testem Duncan / Results are presented as averages of three replicates ± standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's test.

Przeprowadzone badania wykazały, że proces fermentacji z użyciem grzybka herbacianego nie spowodował istotnych zmian w sumarycznej zawartości polienowych kwasów tłuszczowych (PUFA) (Tabela 2). Zmiany w składzie i zawartości niektórych kwasów tłuszczowych podczas fermentacji mleka krowiego inokulum kombucha z herbatami ziołowymi w różnych temperaturach fermentacji wykazali Brezo i wsp. (2011) [5] oraz Malbaša i wsp. [23]. Autorzy podają, że temperatura fermentacji i sposób przygotowania kombuchy wpływają na profil kwasów tłuszczowych produktów fermentowanych. Zaobserwowane w badaniach zmiany w profilu kwasów tłuszczowych, utrzymanie zawartości kwasów PUFA na stałym poziomie, istotny wzrost zawartości kwasów MUFA oraz spadek zawartości kwasów SFA w napojach po fermentacji SCOBY, są korzystne z żywieniowego punktu widzenia. Dane na temat składu kwasów tłuszczowych napojów fermentowanych SCOBY są jeszcze ograniczone, co wskazuje na potrzebę dalszych badań w tym obszarze.

Analiza zawartości składników mineralnych

W badanych próbkach napoju sojowego przed fermentacją w największych ilościach występowały potas (263,9 mg/ 100 g) oraz wapń (151,8 mg/ 100 g), podczas gdy miedź i mangan występowały w najmniejszych ilościach, odpowiednio 110,2 µg/100 g i 113,1 µg/100 g (Tabela 3). Fermentacja z użyciem grzybka herbacianego spowodowała istotny ($p < 0,05$) spadek zawartości wszystkich oznaczanych składników mineralnych za wyjątkiem manganu. W tym wypadku odnotowano blisko 10-procentowy wzrost zawartości tego pierwiastka, co może wynikać z jego wysokiej zawartości w naparze z zielonej herbaty używanym jako starter do fermentacji. Wczesniejsze badania [20] wykazały, że ten typ naparu zawiera 512 µg manganu w 100 cm³. Wzrost zawartości manganu podczas fermentacji kombuchy został również potwierdzony w innych badaniach [3, 4], w których dodatkowo zaobserwowano, że tempo zmian jego zawartości zależy od rodzaju kultury starterowej użytej do fermentacji, czasu i warunków jej aktywności.

Zawartość wszystkich pozostałych składników mineralnych zmniejszyła się istotnie ($p < 0,05$) po fermentacji. Największe obniżenie, blisko 20-procentowe, zaobserwowano w przypadku zawartości wapnia i miedzi. Zawartość żelaza, magnezu i cynku zmniejszyła się o mniej niż 10 %. O zawartości składników mineralnych w gotowym produkcie decyduje wiele czynników, a spadek zawartości może wynikać z niskiej zawartości zarówno w liściach zielonej herbaty użytych do przygotowania starteru fermentacyjnego, jak i w wodzie użytej do uzyskania naparów. Wśród czynników wpływających na obniżenie poziomu składników mineralnych w produktach fermentowanych przy użyciu kultury SCOBY wskazuje się także na aktywność obecnych mikroorganizmów, które mogą działać jako biosorbenty i wiązać metale w swojej strukturze komórkowej [17]. Z drugiej strony ich aktywność może korzystnie wpływać

na biodostępność składników mineralnych, ponieważ podczas fermentacji degradacji ulegają składniki tworzące z nimi nierozpuszczalne kompleksy, takie jak szczawiany, taniny i fitiny [12, 15, 17].

Tabela 3. Wpływ procesu fermentacji na zawartość wybranych składników mineralnych w analizowanych napojach

Table 3. Effect of fermentation process on selected minerals contents in tested beverages

Próbki / Samples	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
Mikroelementy/ Microelements [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]		
Cu	110,2 ^a \pm 0,157	92,9 ^b \pm 0,527
Mn	113,1 ^b \pm 0,171	123,4 ^a \pm 0,467
Fe	296,8 ^a \pm 0,772	280,7 ^b \pm 0,597
Zn	263,7 ^a \pm 0,348	240,5 ^b \pm 0,500
Makroelementy/ Macroelements [$\text{mg}/100\text{ g}$]		
Mg	11,6 ^a \pm 0,046	10,8 ^b \pm 0,049
Ca	151,8 ^a \pm 1,031	126,6 ^b \pm 0,992
Na	13,8 ^a \pm 0,096	12,5 ^b \pm 0,079
K	263,9 ^a \pm 3,723	233,9 ^b \pm 4,317
P	116,1 ^a \pm 0,124	101,7 ^b \pm 0,034

Objaśnienia/ Explanatory notes:

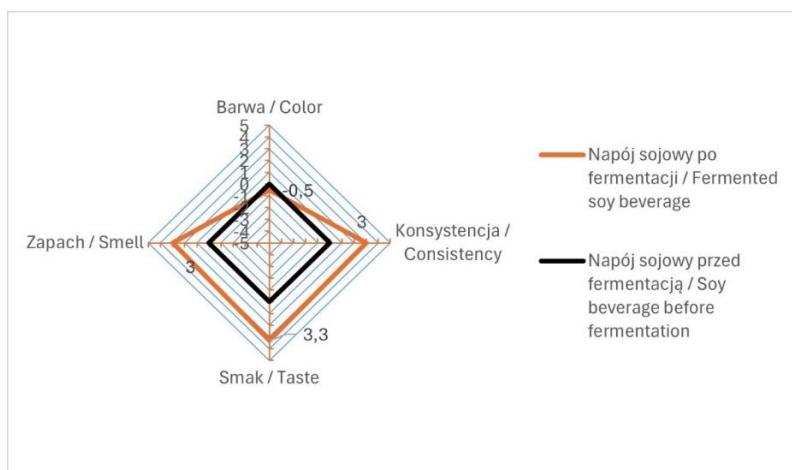
Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń \pm odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) zgodnie z testem Duncana / Results are presented as averages of three replicates \pm standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's test.

Uzyskane wyniki wskazują, że kierunek i zakres zmian zawartości składników mineralnych w napojach fermentowanych typu kombucha związany jest przede wszystkim z rodzajem połączeń, w jakich występują one ze składnikami organicznymi w produkcji. Należy również wziąć pod uwagę możliwe straty pierwiastków podczas prowadzenia procesu fermentacji. W przypadku analizowanego napoju sojowego po fermentacji z użyciem SCOBY korzystne zmiany zaobserwowano tylko w przypadku wzrostu zawartości manganu.

Analiza sensoryczna

Ocenę sensoryczną prowadzono z zastosowaniem metody profilowania różnicowego. Oceniano cechy sensoryczne (barwa, tekstura, smak, zapach) napoju sojowego po fermentacji w porównaniu z próbką standardową, czyli napoju niepoddanego fermentacji i przyjętego jako środek w skali dwukierunkowej. Wyniki przedstawiono na wykresie radarowym (Ryc. 1). Fermentacja z zastosowaniem grzybka herbacianego

spowodowała zmiany cech sensorycznych uzyskanego napoju. Oceniający stwierdzili, że barwa napoju po fermentacji jest zbliżona (-0,5), nieco tylko jaśniejsza do standardu. Napój po fermentacji miał beżową barwę o lekkim słomkowo żółtym odcieniu. Wyraźnie zmieniła się konsystencja napoju po fermentacji (+3), była bardziej gęsta, przypominająca jogurt z dużą zawartością pęcherzyków powietrza. Podobne zmiany w konsystencji zaobserwowali Malbaša i wsp. [24] przy fermentowaniu grzybkami herbacianym mleka krowiego. Zdecydowanie zmienił się także smak napoju sojowego po fermentacji na bardziej intensywny i wyrazisty (+3,3), prawdopodobnie ze względu na powstający kwas octowy [28], z wyczuwalnym posmakiem drożdżowym i lekko zbożowym. Podczas degustacji pojawiało się odczucie musowania na języku. W porównaniu ze standardem napój po fermentacji miał bardziej intensywny zapach (+3), podobnie jak w przypadku smaku z wyczuwalną nutą drożdżową i zbożową. W badaniach Vitas i wsp. [27], w których kulturą SCOBY fermentowano mleko krowie, zaobserwowano podobne zmiany, tj. jednolitą niezmienną barwę, bardziej gęstą, typową dla jogurtu konsystencję, ale za to swoisty, łagodny zapach podobny do jogurtu.



Rycina 1. Analiza sensoryczna fermentowanego napoju sojowego typu kombucha

Figure 1. Sensory analysis of fermented kombucha soy beverage

Wnioski

1. Wyniki przedstawione w pracy uzupełniają podstawową wiedzę na temat naturalnych alternatywnych metod zwiększania zawartości składników prozdrowotnych w spożywanej żywności. Jednocześnie potwierdzają konieczność analizowania właściwości chemicznych i sensorycznych nowych napojów fermentowanych z użyciem kultury SCOBY.

2. W pracy wykazano, że napój sojowy typu kombucha może odgrywać znaczącą rolę w neutralizowaniu wolnych rodników, a tym samym ma potencjał prozdrowotny przypisywany żywności funkcjonalnej.
3. W napoju sojowym po fermentacji zaobserwowano korzystne z żywieniowego punktu widzenia zmiany w profilu kwasów tłuszczowych, utrzymanie na stałym poziomie zawartości kwasów PUFA, istotny wzrost zawartości kwasów MUFA oraz obniżenie zawartości kwasów SFA.
4. Fermentacja z zastosowaniem SCOBY wpłynęła korzystnie na zawartość manganu podwyższając jego ilość o blisko 10 % w porównaniu z napojem przed fermentacją.
5. Fermentowany napój sojowy zyskał bardziej intensywny smak oraz zapach, a także bardziej gęstą konsystencję, przypominającą jogurt.

Literatura

- [1] Antolak H., Piechota D., Kucharska A.: Kombucha Tea - A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *J. Antioxid. Act.*, 2021, 10, #1541.
- [2] Baryłko – Piekielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków, 2009, pp. 181-222, 313-32.
- [3] Bauer- Petrovska B., Petrushevska- Tozi L.: Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2001, 35 (2), 201-205.
- [4] Bishop P., Pitts E.R., Budner D., Thompson-Witrick K. A.: Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 2022, 8 (3), #45.
- [5] Brezo T.Ž., Kravi S., Suturovic Z.J., Karisik-Urovic A.D., Vitas J.S., Malbasa R.V., Milanovic S.D.: Influence of kombucha inoculum on the fatty acid composition of fermented milk products. *Food Ind.*, 2011, 1, 21-24.
- [6] Chu Sheng-Ch., Chen Ch.: Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chem.*, 2006, 98 (3), 502-507.
- [7] Czarnowska-Kujawska M., Paszczyk B.: Changes in the Folate Content and Fatty Acid Profile in Fermented Milk Produced with Different Starter Cultures during Storage. *Molecules*, 2021, 26, #6063.
- [8] Czarnowska-Kujawska M., Draszanowska A., Starowicz M.: Effect of different cooking methods on the folate content, organoleptic and functional properties of broccoli and spinach. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2022, 167, #113825.
- [9] Czarnowska-Kujawska M., Starowicz M., Barišić V., Kujawski W.: Health-Promoting Nutrients and Potential Bioaccessibility of Breads Enriched with Fresh Kale and Spinach. *Foods*, 2022, 11, #3414.
- [10] De Noronha M.C., Cardoso R.R., dos Santos D'Almeida C.T., do Carmo M.A.V., Azevedo L., Maltarollo V.G, Barros F.A.R.: Black tea kombucha: Physicochemical, microbiological and comprehensive phenolic profile changes during fermentation, and antimalarial activity. *Food Chem.*, 2022, 384, #132515.
- [11] Grand View Research: Kombucha market size, share & trends analysis by product (conventional hard) by distribution channel (on – trade, off – trade), by region, and segment forecasts 2022-2030.


- [on line]. Dostęp w Internecie [06.06.2024]: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kombucha-market>.
- [12] Gupta R.K., Gangoliya S.S., Singh N.K.: Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *J. Food Sci. Tech.*, 2015, 52, 676-684.
- [13] Horszwald A., Andlauer W.: Characterization of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. *J. Berry Res.*, 2011, 1, 189-142.
- [14] IDF 182:2002 (ISO 15884:2002) Milk fat - Preparation of fatty acid methyl esters.
- [15] Ivanišová E., Meňhartová K., Terentjeva M., Harangozo L., Kántor A., Kačániová M.: The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *J. Food Sci. Tech.*, 2020, 57, 1840-1846.
- [16] Jakubczyk K., Kałduńska J., Kochman J., Janda K.: Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. *J. Antioxid. Act.*, 2020, 9, #447.
- [17] Jakubczyk K., Kupnicka P., Melkis K., Mielczarek O., Walczyńska J., Chlubek D., Janda-Milczarek K.: Effects of Fermentation Time and Type of Tea on the Content of Micronutrients in Kombucha Fermented Tea. *Nutrients*, 2022, 14, #22.
- [18] 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 Fungs. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2014, 538-550.
- [19] Kapp J. M., Sumner W.: Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Ann. Epidemiol.* 2018, 30, 66-70.
- [20] Klepacka J., Tońska E., Rafałowski R., Czarnowska-Kujawska M., Opara B.: Tea as a Source of Biologically Active Compounds in the Human Diet. *Molecules*, 2021, 26, #1487.
- [21] Krelowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa, 1993, 87-88.
- [22] LeBlanc J.G., Laiño J.E., Juarez del Valle M., Vannini V., van Sinderen D., Taranto M.P., Sesma F.: B- Group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications, *J. Appl. Microbiol.*, 2011, 111(6), 1297-1309.
- [23] Malbaša R.V., Vitas J.S., Lončar E.S., Kravić S.Ž.: Influence of fermentation temperature on the content of fatty acids in low energy milk-based kombucha products. *Acta Period. Technol.*, 2011, 42, 81-90.
- [24] Malbaša R.V., Milanović S.D., Lončar E.S., Djurić M.S., Carić M.D., Iličić M.D., Kolarov L.: Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chem.*, 2009, 112 (1), 178-184.
- [25] PN-EN ISO 8589:2010 Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [26] Tu C., Tang S., Azi F., Hu W., Dong M.: Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *J. Funct. Foods*, 2019, 52, 81-89.
- [27] Vitas J. S., Malbaša R. V., Grahovac J. A., Lončar E. S.: The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 2013, 19, 129-139.
- [28] Xia X., Dai Y., Wu H., Liu X., Wang Y., Yin L.: Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *J. Funct. Foods*, 2019, 62, #103549.
- [29] Zieliński H., Zielińska D., Kostyra H.: Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by updated analytical strategies. *Food Chem.*, 2012, 130, 1098-1104.
- [30] Zou Ch., Li R., Chen J., Wang F., Gao Y., Fu Y., Yin J.: Zijuan tea- based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. *Food Chem.*, 2021, 363, #130322.

THE CHEMICAL, ANTIOXIDANT AND SENSORY PROPERTIES OF KOMBUCHA SOY BEVERAGE

S u m m a r y

Background. Fermentation using SCOBY culture and the resulting kombucha drinks are constantly gaining popularity due to their attractive sensory properties and potentially higher content of bioactive ingredients. During the experiment, a soy drink was fermented using kombucha. The research goal was to assess the selected health-promoting properties of the obtained drink after fermentation based on its anti-oxidant activity, fatty acid profile, content of selected minerals and sensory properties.

Results and conclusion. A statistically significant ($p < 0.05$) increase in antioxidant properties measured by PCL and DPPH tests was demonstrated when comparing the soy drink before and after fermentation. Changes after fermentation were also observed in the fatty acid profile, and Folch, IDF and GC-FID methods were used to examine them. There was a significant decrease ($p < 0.05$) in the total content of saturated fatty acids (SFA) and a significant increase ($p < 0.05$) in the content of monoenoic fatty acids (MUFA). Mineral components were determined using the acetylene-air flame emission technique, using a flame atomic absorption spectrometer and a VIS 6000 spectrophotometer. After fermentation, the soy drink was characterized by a significantly lower ($p < 0.05$) content of minerals such as Cu, Fe, Zn, Mg, Ca, Na, P. Only the Mn content was significantly higher ($p < 0.05$). The sensory analysis was carried out by a 10-person team of assessors with proven sensory sensitivity by means of the differential profiling method, using a bipolar linear scale, in comparison to the standard sample (the non-fermented drink). The fermented soy drink gained a more intense taste and smell, as well as a thicker, yogurt-like consistency.

Key words: kombucha, soy beverage, fatty acids, anti-oxidative activity, minerals 

ANNA PLATTA, ANNA MIKULEC, MONIKA RADZYMIŃSKA,
GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA,
MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI

EDIBLE INSECTS AS A POTENTIAL PRODUCT FOR ACHIEVING GLOBAL FOOD SECURITY. PART 1

S u m m a r y

Background. The use of edible insects as a food source for humans creates numerous demographic, environmental, economic and ethical challenges for societies. The consumption of food containing edible insects in its composition requires, first and foremost, its acceptance by consumers. The aim of the study was to determine whether the attitudes and intentions of young consumers in Poland (Generation Z) toward foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g., meal) in their composition can affect concerns about food security and environmental sustainability worldwide. In preparing the questionnaire, a set of statements adapted from scientific publications by other authors was used. The survey questionnaire included items (15) relating to: attitudes toward insect food (4), intentions to purchase food from insects (4), the willingness to pay a higher price for food containing insects, the production of which takes into account care for the environment (1), concern for food security (4) and environmental sustainability (2). During the survey, the respondents expressed the level of approval or disapproval of all items included, using a five-point Likert scale.

Results and conclusions. Based on the survey carried out among young people, it can be concluded that the acceptance of foods containing edible insects in their composition as a solution, or support, to the problem of global food insecurity is related to attitudes and intentions to consume and purchase foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal). Understand-

Dr inż. A. Platta ORCID: 0000-0002-7963-1889, Faculty of Management and Quality Science, Gdynia Maritime University, 81-87 Morska St. 81-225 Gdynia; *dr inż. A. Mikulec*, ORCID: 0000-0002-2737-5967, Faculty of Engineering Sciences, University of Applied Science in Nowy Sącz, 1a Zamenhofa St., 33-300 Nowy Sącz; *dr inż. M. Radzyńska* ORCID: 0000-0003-0531-268X, Faculty of Economic Sciences, Institute of Management Science and Quality, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 4 Oczapowskiego St., 10-719 Olsztyn; *dr. G. Suwała* ORCID: 0000-0002-7857-2282, Department of Food Product Quality, Krakow University of Economics, 27 Rakowicka St., 31-510 Kraków; *mgr inż. M. Zborowski*, ORCID: 0000-0003-2695-2491, Faculty of Health Sciences, University of Applied Science in Nowy Sącz, 2a Kościuszki St., 33-300 Nowy Sącz; *dr hab. inż. M. Ruszkowska* ORCID: 0000-0002-4488-1087, Faculty of Management and Quality Science, Gdynia Maritime University, 81-87 Morska Street, 81-225 Gdynia; *dr inż. M. Nowicki* ORCID: 0000-0002-2655-5464, Department of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee, Knoxville TN, USA; *dr hab. inż. P.Ł. Kowalczewski* ORCID: 0000-0002-0153-4624, Department of Food Technology of Plant Origin, Poznań University of Life Sciences, 31 Wojska Polskiego St., 60-624 Poznań; Kontakt: e-mail: a.platta@wz.nj.umg.edu.pl

ing young consumers' intentions to consume food containing edible insects combined with their experiences with edible insects is the most effective way to encourage consumers to purchase and consume new foods. The results obtained can contribute to efforts to promote the legitimacy of producing new foods containing edible insects in their composition.

Keywords: sustainable development, entomophagy, attitudes to food and nutrition, willingness to consume, Generation Z in Poland

Introduction

Food insecurity affects approx. 2 billion people worldwide [25]. The use of edible insects as a source of food for humans, due to global population growth, increasing demand for animal protein and rising costs of its production, as well as food insecurity in some regions of the world and increasing environmental pressure, has become an issue of global importance in recent years. Achieving environmentally sustainable food security is now one of the greatest global challenges [3, 7, 16]. From the point of view of ensuring food security, a key issue is the production of sufficient quantities of wholesome protein, which is essential for the human body to properly function [30]. Alternatives to food as a source of protein from traditional livestock and plant production may include proteins derived from edible insects. As part of an initiative to fight world hunger and reduce the negative impact of animal farming on the environment, the European Union has developed a special strategy for action in this regard. Its goal is to gradually allow mass production of ingredients on the "novel food list," referring to alternative products that were not significantly used in food production in the EU before 1997. In 2017, the Commission's Implementing Regulation (EU2107/2470) of December 20, 2017, establishing the EU list of novel foods, in accordance with Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council on novel foods, was published. An additional source of information on the status of specific ingredients is the European Commission's Catalogue of Novel Foods, which is an open document and successively supplemented with new products. In the EU, the Novel Food Catalog allows and lists four edible insects: the mealworm (*Tenebrio molitor* L.), the house cricket (*Acheta domestica* L.), the migratory locust (*Locusta migratoria*) and, from March 5, 2023, the larvae of the buffalo worm (*Alphitobius diaperinus* P.) [2]. In recent years, there has been a growing number of scientific findings on the potential use of edible insect preparations in the production of a range of food products, such as baked goods, confectionery, snacks or even hamburgers [4, 5, 9, 10, 12, 13, 14, 21, 22, 26, 33] and their acceptance by consumers [12, 13, 14, 35]. It seems that consumer acceptance, in particular, poses many challenges, especially within the so-called Western culture, where eating insects has unambiguously negative connotations. It is noteworthy, however, that a growing number of studies indicate great potential in this area,

especially among young people [7]. By age, consumers can be divided into groups or segments with strong homogeneous characteristics. The most well-known age distribution of consumers can be classified as Generation Baby Boomers, X, Y or Z, also known as multi-generational marketing, where a distinction is made between: Baby Boomers – born between 1946 and 1964; Generation X – born between 1965 and 1979; Generation Y (so-called millennials) – born between 1980 and 1994; Generation Z – born after 1995, often also referred to as Generation C ('connected') or the Post-Millennial generation [38]. The generation is considered to have been raised consciously, which is demonstrated by its representatives through their assertiveness and courage to fight for their rights. Generation Z is perceived to be very concerned about increasing environmental change, rising terrorism and terrorist attacks around the world, rising unemployment and income inequality [37]. As discussed in the literature, young adults in Poland (Generation Z) express the willingness to take a number of actions related to changing eating habits in order to improve the nutritional status of the body [28, 29]. The prevailing ambivalent attitude of students in Poland towards health or environmental concerns in terms of the willingness to consume edible insects [23] may lead to greater resistance or increased susceptibility to persuasion and influence. It is assumed that ambivalent attitudes are flexible and, depending on the context, can either help individuals to adapt better or prevent them from reaching satisfactory conclusions [32, 41].

Edible insects are a good source of protein and fatty acids [10, 12, 13, 14], and also provide many other nutritionally valuable nutrients, such as minerals (phosphorus, potassium, iron) and vitamins (in particular ascorbic acid, thiamine, riboflavin and niacin) [10]. The high nutritional value of edible insects means that products containing them, more broadly, could provide a valuable food source to help combat malnutrition and hunger worldwide [20]. In addition, it has been suggested that in the geographic regions where people particularly suffer from malnutrition and food insecurity, edible insects could contribute to a partial solution to this important problem [42]. However, the potential socioeconomic benefits of insect husbandry, particularly with regard to enhancing food security, need to be confirmed in future studies. It is important to remember that further research into the biology, ecology, habitat protection, nutritional requirements and control of their breeding conditions is needed to produce edible insect species for consumption. In addition, additional regulations and laws governing insects as a source of human food are needed to ensure greater investment, production (from small to industrial-scale farms) and trade in edible insects and their products [16].

The aim of the study was to determine whether the attitudes and intentions of young consumers in Poland (Generation Z) toward foods containing edible insects

(fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g., meal) in their composition can affect concerns about food security and environmental sustainability worldwide.

Material and methods

Subjects

An empirical survey was conducted among students of five Polish universities coming from the following provinces: Kujawsko-Pomorskie (approx. 3%), Małopolskie (approx. 23%), Mazowieckie (approx. 6%), Pomorskie (approx. 31%), Podkarpackie (approx. 3%), Podlaskie (approx. 3%), Warmińsko-Mazurskie (approx. 17%), Wielkopolskie (approx. 5%), and in a percentage of less than 2% (respectively) from Dolnośląskie, Zachodniopomorskie, Lubuskie, Świętokrzyskie, Lubelskie, Łódzkie, Opolskie. The survey was conducted using a specially designed questionnaire, by the indirect interview method, via an online platform in 2023. The questionnaire was validated by assessing the construct validity and estimating the reliability of the scales used using Cronbach's alpha coefficient. The α value obtained was 0.89, indicating good reliability. The study was approved by the University Research Ethics Committee of the Cracow University of Economics No. KEBN/71/0044/D24/2023.

In the research proceedings, 1,063 properly completed survey questionnaires were collected. All respondents gave voluntary, informed consent to participate in the study and were assured of its anonymity. The participants in the study were those who stated that they ate all food types and did not limit their consumption of meat or animal products. The persons who were vegetarians, vegans and those on a flexitarian diet were excluded from the study. During the research procedure, 1,087 survey questionnaires were collected, and 24 incomplete and incorrectly completed ones were eliminated: Seven persons did not agree to participate in the study (they did not complete the survey further), 15 persons refused to answer the question about gender, and two persons entered very large, unrealistic values in the age field. All respondents gave their free, informed consent to participate in the survey and were assured of its anonymity. The structure of the surveyed sample (N = 1,063 respondents) is presented in Table 1.

Table 1. Characteristics of the respondents surveyed
Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy respondentów

Variables / Zmienne	N	% of total / % ogółu
Gender / Płeć		
Women / kobiety	649	61.05
Men / mężczyźni	414	38.95
Origin (Province) / Pochodzenie (województwo)		
Pomorskie	331	31.14
Małopolskie	247	23.24
Warmińsko-mazurskie	182	17.12
Mazowieckie	63	5.93
Wielkopolskie	48	4.52
Podkarpackie	31	2.92
Kujawsko-Pomorskie	30	2.82
Podlaskie	27	2.54
Śląskie	21	1.98
Zachodniopomorskie	19	1.79
Lubuskie	18	1.69
Świętokrzyskie	12	1.13
Lubelskie	10	0.94
Dolnośląskie	10	0.94
Łódzkie	9	0.85
Opolskie	5	0.47

Questionnaire and data analysis

In preparing the questionnaire, a set of statements adapted from scientific publications by other authors was used. The survey questionnaire included items relating to:

- Attitudes toward insect foods (4 items): "I think buying new insect food is a good idea", "I think buying new insect food is a wise choice", "I like the idea of buying new innovative insect food", "Buying new innovative insect food would be nice" [39].
- Intentions to purchase food from insects (4 items): "I would try dishes made from insects or with insect ingredients if I had the opportunity to do so", "I am interested in consuming dishes or foods/products made from insects in the near future", "I am willing to purchase "new foods" containing edible insects in their composition", "I

will make an effort to purchase foods containing insect protein in the near future" [11, 17].

- The willingness to pay a higher price for food containing insects, the production of which takes into account care for the environment (1 item).
- Concern for food security (4 items) and environmental sustainability (2 items) (CFS & ES) resulting from the willingness to consume food with edible insects in it – Implementing the practice of consuming foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) can solve problems such as: 1. hunger and malnutrition (HM); 2. providing access to foods with high nutritional value (PC-FHNV); 3. high demand for protein sources (HD-PS); 4. providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids (PC-FHCn-3FA); 5. sustainability in food production (SFP); 6. reducing greenhouse gas emissions (RGGE). The second, third and fifth items were adapted from Lim et al. study [19]. The other three were additional.

During the survey, the respondents expressed the level of approval to or disapproval of all items posted using a five-point Likert scale, where the values 1 to 5 mean: definitely no; no; I do not know/I have no opinion; yes; definitely yes [18].

The empirical material collected was presented in the form of a percentage distribution of the responses given and selected descriptive statistics, such as median, mean, standard deviation. In order to indicate statistically significant differences between mean values, an analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test was applied using Tukey's test. The chi-square test with Yates' correction was conducted to determine the relationship between attitudes toward foods with edible insects in them and intentions to purchase such foods, as well as the willingness to pay more for foods with insects because of the environment, and concern for food security and environmental sustainability. Spearman's rank correlation analysis was used to determine the relationship (relations) between the independent variables (attitudes toward insect food, intentions to purchase insect food; the willingness to pay a higher price for food containing insects) and the dependent variable (concern for food security and environmental sustainability). A significance level of $p < 0.05$ was assumed for all statistical analyses, and calculations were performed using Excel 2000 and Statistica 13.3 (Tibco Software, Palo Alto, USA).

Results and discussion

Attitudes toward foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g., meal) proved to be a factor influencing statements related to concern for food security and environmental sustainability. The greatest polarization was observed in the negative and positive responses given to each statement included on the scale. Among those characterized by negative attitudes toward foods

containing edible insects in their composition, almost two-thirds of respondents answered "no" to all statements made on the scale of concern for food security and environmental sustainability. The respondents gave a negative response ("no") from 57.14 % (of the total respondents) to the statement: "*Food containing edible insects can provide demand for a source of protein*" to 65.55 % (of the total respondents) to the statement: "*Food containing edible insects can contribute to environmental sustainability*". On the other hand, the respondents having a positive attitude toward foods containing edible insects in their composition stated that they believed that consuming these foods would help solve world hunger and malnutrition (69.01 % of the total respondents), provide access to foods with a high concentration of n-3 fatty acids (76.61 % of the total respondents) and foods with high nutritional value, and meet a high demand for a source of protein (90.06 % of the total respondents) (tab. 2). The mean values of the scores obtained for the individual statements included on the scale of concern for food security and sustainability differed significantly in all groups of respondents differentiated by their stated attitudes toward foods containing edible insects in their composition. In the group with a declared negative attitude toward these foods, average values ranged from 1.92 to 2.21 points, in the group with an ambivalent attitude from 3.13 to 3.47 points, and in the group with a positive attitude from 3.87 to 4.29 points. A significant positive moderate correlation was observed between attitudes toward food containing edible insects and concern for food security and environmental sustainability, ranging from 0.42 for the statement on the impact of eating food containing insects on solving world hunger and malnutrition to 0.56 for the statements on sustainability in food production. In contrast, for the remaining statements, a significant positive strong correlation was observed between attitudes toward food containing edible insects and concern for food security and environmental sustainability, which ranged from 0.52 for the statement: "*Consuming foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) can solve problems such as ensuring access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids and reducing greenhouse gas emissions*" to 0.56 for the statement: "*Consumption of foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) can have an impact on achieving sustainability in food production*" (tab. 2).

A previous study of a representative sample of an adult population found that the men who are more familiar with entomophagy pay more attention to the environmental impact of food, are convenience-oriented and are more willing to accept insects as a meat substitute. However, those with higher levels of food neophobia and disgust sensitivity and lower levels are less likely to eat insects [24]. Nonetheless, both studies showed that concern for environmental sustainability is very important for the population in Poland. Edible insects are generally rich in nutrients; they contain amounts of various nutrients such as protein, fat, fiber, vitamins and minerals that are comparable

to other animal-based foods [8]. Importantly, edible insects have been identified as a good alternative allowing to meet the increasing demand for protein sources due to the growing world population [1]. In addition, insect farming is more sustainable and environmentally friendly than other protein sources [1]. The livestock sector has been identified as one of the main contributors to climate changes due to high greenhouse gas and ammonia emissions from cattle, pigs and poultry. Therefore, large-scale insect production has been suggested as an alternative to meet the growing demand for livestock due to the rapid growth of the global population, without significant environmental impacts [8]. However, there are various barriers to accepting insects as food in different populations around the world. Due to high levels of insect aversion, indicated mean values for food neophilia and sushi acceptance, and low familiarity and experience with edible insects, the probability of accepting new foods with edible insects in the Portuguese population was 33.2 % and in the Norwegian population it was less than 50 % [31]. Wilkinson et al. [40] reported that only 17.8 % of Australians were willing to accept insects as food [40], while another study in Belgium found that 19 % of the population was willing to accept insects as a meat substitute [43]. Research on consumer acceptance of insects as food has shown demographic variation in acceptance rates and identified several common objections and perceived benefits [15].

Research on attitudes toward edible insects among younger Australians (Millennials and Generation Z) found that there was low willingness of Australian consumers to accept edible insects as a meat substitute, mainly due to strong psychological barriers such as neophobia and disgust, combined with perceived threats to masculinity. Also, environmental and nutritional benefits, even when recognized, did not influence young consumers in Australia to consider insects as an alternative to traditionally eaten foods [34]. The low percentage of young Polish consumers (Generation Z) showing positive attitudes toward entomophagy (tab. 1) coincides with the results of other studies presented above. However, in the near future, as young people, both in Poland and in other countries around the world, become more aware of sustainability and climate change issues related to zoonotic food production (cattle, pigs, poultry), the impact of the potential benefits of insect consumption on their positive attitudes may increase. In addition, providing the opportunity to taste foods made from or with insects and associated positive sensory experience may increase the acceptability of insects as food. The introduction of new processed insect-based products can help familiarize young consumers with such new food options.

The intention to purchase food containing edible insects had a significant impact on all statements regarding the willingness to consume food containing edible insects with the intention of food security and environmental sustainability (tab. 3). Those who declared the willingness to purchase food containing edible insects on statements

Table 2. Acceptance levels (assessed on a five-point scale, from 1 – “definitely no” to 5 – “definitely yes”) for different forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the young consumers’ segmentation according to attitudes towards foods containing edible insects

Tabela 2. Poziomy akceptacji (oceniwane na 5-punktowej skali, od 1 - "zdecydowanie nie" do 5 - "zdecydowanie tak") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od postaw wobec żywności zawierającej jadalne owady

	Attitudes toward foods containing edible insects / Postawy wobec żywności zawierającej jadalne owady																Spearman's R/ R Spear- mana
	No / Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes / Tak			Chi2	Median / Mediana			Mean±SD / Średnia ±SD			
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P		N	A	P	N	A	P	
Statements - CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	[%]																
HM	60.50	27.83	16.37	19.75	27.98	14.62	19.75	44.19	69.01	Chi2=140.57; df=4; p<0.01	2.00	3.00	4.00	2.16 ^a ±1.29	3.16 ^b ±1.06	3.87 ^c ±1.10	0.42
PC-FHNV	62.18	18.35	4.68	20.59	31.04	7.60	17.23	50.61	87.72	Chi2=295.30; df=4; p<0.01	1.50	4.00	4.00	2.08 ^a ±1.23	3.37 ^b ±0.96	4.23 ^c ±0.81	0.54
HD-PS	57.14	15.90	2.92	21.85	27.68	7.02	21.01	56.42	90.06	Chi2=278.82; df=4; p<0.01	2.00	4.00	4.00	2.21 ^a ±1.27	3.47 ^b ±0.95	4.29 ^c ±0.72	0.53
PC-FHCn- 3FA	61.34	19.11	4.68	25.21	43.58	18.71	13.45	37.31	76.61	Chi2=278.65; df=4; p<0.01	1.50	3.00	4.00	2.03 ^a ±1.17	3.20 ^b ±0.88	3.98 ^c ±0.77	0.52
SFP	65.55	21.71	5.26	26.89	43.73	14.04	7.56	34.56	80.70	Chi2=339.42; df=4; p<0.01	1.00	3.00	4.00	1.92 ^a ±1.10	3.13 ^b ±0.93	4.02 ^c ±0.83	0.56
RGGE	61.34	20.34	3.51	25.63	39.60	15.79	13.03	40.06	80.70	Chi2=288.41; df=4; p<0.01	2.00	3.00	4.00	2.06 ^a ±1.18	3.23 ^b ±1.00	4.15 ^c ±0.85	0.52

Explanatory notes:

*N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude - attitude scale towards food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p<0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-

PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE - reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia:

*N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – skala postaw wobec żywności zawierającej jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p<0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM - głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS – wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych.

Table 3. Acceptance levels (assessed on a five-point scale, from 1 – “definitely no” to 5 – “definitely yes”) for different forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the young consumers’ segmentation depending on the intention to buy food containing edible insects

Tabela 3. Poziomy akceptacji (oceniane na 5-punktowej skali, od 1 - "zdecydowanie nie" do 5 - "zdecydowanie tak") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od intencji zakupu żywności zawierającej jadalne owady

Statements - CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	Purchase intentions/ Intencje zakupu									Chi ²	Median / Mediana			Mean±SD / Średnia±SD			Spearman's R/ R Spear- mana
	No/ Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes/ Tak				N	A	P	N	A	P	
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P								
HM	47.19	30.05	19.92	26.12	25.78	18.01	26.69	44.17	62.07	Chi ² =86.64; df=4; $p<0.01$	3.00	3.00	4.00	2.52 ^a ±1.28	3.13 ^b ±1.10	3.64 ^c ±1.14	0.34
PC-FHNV	46.35	19.28	9.58	28.65	29.37	12.26	25.00	51.35	78.16	Chi ² =206.01; df=4; $p<0.01$	3.00	4.00	4.00	2.50 ^a ±1.26	3.35 ^b ±0.99	3.97 ^c ±0.94	0.46
HD-PS	44.66	15.70	6.13	27.81	25.56	12.26	27.53	58.74	81.61	Chi ² =224.61; df=4; $p<0.01$	3.00	3.00	4.00	2.56 ^a ±1.26	3.48 ^b ±0.94	4.10 ^c ±0.87	0.49

PC-FHCn-3FA	47.75	19.51	8.43	33.43	44.39	22.99	18.82	36.10	68.58	Chi ² =219.24; df=4; <i>p</i> <0.01	3.00	3.00	4.00	2.40 ^a ±1.18	3.16 ^b ±0.87	3.80 ^c ±0.90	0.46
SFP	50.56	23.31	8.81	33.99	43.95	21.84	15.45	32.74	69.35	Chi ² =244.85; df=4; <i>p</i> <0.01	2.00	3.00	4.00	2.33 ^a ±1.18	3.06 ^b ±0.93	3.81 ^c ±0.93	0.48
RGGE	48.88	20.18	8.05	30.90	39.46	23.37	20.22	40.36	68.58	Chi ² =207.54; df=4; <i>p</i> <0.01	3.00	3.00	4.00	2.42 ^a ±1.23	3.22 ^b ±1.00	3.89 ^c ±0.98	0.45

Explanatory notes:

*N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude – the scale of intention to purchase food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p < 0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale); HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia:

*N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – skala intencji zakupu żywności zawierającej jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS – wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych.

included on the scale of concern for food security and environmental sustainability were significantly more likely to answer "yes". The potential impact of consuming food containing edible insects in its composition on solving problems such as hunger and malnutrition was perceived by 62.07 % of the respondents, and on ensuring demand for protein sources by as many as 81.61 % of the respondents. On the other hand, those with a declared lack of intention to purchase food containing edible insects were significantly more likely than the others to answer "no" to all statements included on the scale of concern for food security and environmental sustainability (from 44.66 % for the statement on ensuring high demand for a protein source by food containing edible insects to 50.56 % for the statement on sustainability) (tab. 3).

The mean values of the scores obtained differed significantly among the three groups of respondents due to the stated intention to purchase foods containing edible insects in their ingredients. In the group characterized by no intention to purchase this type of food, the mean values ranged from 2.33 to 2.56 points, in the group with ambivalent intentions the mean values ranged from 3.06 to 3.48 points, and in the group that declared the willingness to purchase such food from 3.64 to 4.10 points. While young consumers in Poland declared the intention to purchase and consume insect food in the near future at a percentage greater than 60 %, cross-cultural studies showed that both Norwegian and Portuguese consumers declared that repulsion towards insects was the variable with the greatest negative impact on the acceptance of insects as food or feed. The reported level of disgust for insects was 76 % for Norway and 75 % for Portugal [31]. Lim [19] found a similar relationship among Malaysians, where insect consumption is historically documented. However, cultural and religious differences among Malaysians influenced the declared disgust toward entomophagy. It should be noted, however, that young Poles demonstrated the willingness to purchase and consume various forms of insect food (tab. 2), while in Norway and Portugal, food choice motivations such as convenience, health and ecological well-being had a minimal impact on the acceptance of insects as food and feed [31]. In addition, Ribeiro et al. [31] identified ideal profiles of consumers in Norway and Portugal accepting insects as feed: Norway – higher education, high (7 – "Very important") acceptance of sushi and high (7 – "Very important") scores for healthy food choices; Portugal – male, young (18 years old), high (7 – "Very important") acceptance of sushi and high (7 – "Very important") scores for food neophilia for Portugal. An analysis of the characteristics conducive to the acceptance of new products by Polish consumers in the 20 ÷ 44 age group showed that the degree of acceptance of new foods, including insects, seaweed and 3D printing technology, depended primarily on the taste, nutritional value and appearance of new food [27].

In addition, a survey of a representative group of adult Poles found that the acceptance of insects as an alternative to meat (general perspective) does not translate

into the willingness to buy and consume them (individual perspective). Polish consumers who declare the acceptance of insects as a meat substitute may not be willing to purchase insects for consumption [24].

The willingness to pay a higher price for food containing edible insects in its composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) proved to be a factor significantly ($p < 0.01$) influencing all tested items measuring concern for food security and environmental sustainability (tab. 4). This willingness was significantly higher in those with positive and ambivalent attitudes toward concern for food security and environmental sustainability (tab. 4). A very large percentage of respondents (almost 84 %) having positive attitudes said they were willing to pay a higher price for food containing edible insects in its composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g., meal) if the food had high nutritional value and was a response to ensuring the availability of protein sources. The mean values of the scores obtained were, for the most part, significantly different for the responses given to each statement by those showing positive attitudes toward concern for food security and environmental sustainability. Only for the statement "*Consuming food containing edible insects in its composition can have an impact on solving the problem of hunger and malnutrition in the world*" no significant differences were observed, as the mean values calculated from the answers given by the respondents displaying positive and ambivalent attitudes did not differ. The highest average values were obtained among those showing positive attitudes for the following statements: "*Consumption of foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal)*" can: reduce greenhouse gas emissions, provide access to nutritious foods and provide high demand for protein sources (4.09 points, 4.12 points and 4.20 points, respectively) (tab. 4). Similar results were obtained in a previous survey of Polish consumers in the 20 to 44 age group [27]. That study revealed that consumers were quite skeptical of disruptive and radical nutritional innovations.

According to the majority of consumers surveyed by Piwovar et al. [27], added value, such as a positive environmental impact, did not outweigh the sensory qualities of the new food and the economic aspect. In Europe, due to strict regulations and a higher degree of inertia in new food adoption, production, commercialization and consumption, edible insects are less developed compared to other regions of the world [36]. It is suggested that future research on the economic acceptance of edible insects should explore three important issues: "*Insect production can help increase family incomes in low-income areas,*" 2. "*Insects provide protein foods at low prices*"; 3. "*Currently, areas in Asia-Pacific and Latin America account for more than half of the market for edible insects*" which are key to the acceptance of new foods by consumers worldwide [6].

Table 4. Acceptance levels (assessed on a five-point scale, from 1 – “ definitely no” to 5 – “ definitely yes”) for different forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the young consumers’ segmentation depending on the willingness to pay a higher price for food containing edible insects

Tabela 4. Poziomy akceptacji (oceniane na 5-punktowej skali, od 1 – "zdecydowanie nie" do 5 – "zdecydowanie tak") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od ich gotowości do zapłaty wyższej ceny za żywność zawierającą jadalne owady

Statements - CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	Willingness to pay/ Gotowość do zapłaty																Spearman's R / R Spera-mana
	No/ Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes/ Tak			Chi ²	Median / Mediana			Mean±SD / Średnia±SD			
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P		N	A	P	N	A	P	
HM	39.03	16.02	19.38	22.70	35.36	13.27	38.27	48.62	67.35	Chi ² =63.82; df=4; p<0.01	3.00	3.00	4.00	2.88 ^a ±1.26	3.41 ^b ±0.97	3.78 ^b ±1.21	0.28
PC-FHNV	31.76	8.84	11.22	26.02	30.94	5.11	42.22	60.22	83.67	Chi ² =105.06; df=4; p<0.01	3.00	4.00	4.00	3.02 ^a ±1.23	3.60 ^b ±0.89	4.12 ^c ±1.07	0.38
HD-PS	28.95	6.63	6.13	24.11	25.41	10.20	46.94	67.96	83.67	Chi ² =94.71; df=4; p<0.01	3.00	4.00	4.00	3.11 ^a ±1.22	3.75 ^b ±0.83	4.20 ^c ±0.93	0.40
PC-FHCn-3FA	32.15	11.05	7.14	36.22	41.44	18.37	31.63	47.51	74.49	Chi ² =100.58; df=4; p<0.01	3.00	3.00	4.00	2.87 ^a ±1.13	3.44 ^b ±0.86	3.94 ^c ±0.89	0.38
SFP	35.71	9.94	9.18	36.61	39.23	16.33	27.68	50.83	74.49	Chi ² =130.49; df=4; p<0.01	3.00	4.00	4.00	2.78 ^a ±1.16	3.48 ^b ±0.85	3.91 ^c ±0.95	0.44
RGGE	33.68	8.29	6.12	33.16	38.67	17.35	33.16	53.04	76.53	Chi ² =120.194; df=4; p<0.01	3.00	4.00	4.00	2.88 ^a ±1.22	3.58 ^b ±0.90	4.09 ^c ±0.96	0.43

Explanatory notes:

*N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude – willingness to pay a higher price for food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p<0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements - CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high

nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia:

*N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – gotowość do zapłaty wyższej ceny za żywność zawierającą jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS – wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych.

Conclusions

1. This study aimed to determine attitudes and intentions to consume and purchase foods containing edible insects among young consumers in Poland. The survey gives a better understanding of the attitudes, intentions and needs of young food consumers in Poland and, as a result, provides them with the kind of information about food products containing insects or the products themselves that they expect.
2. The young consumers having positive attitudes toward the purchase of, and purchasing intentions for, foods with insects expect these foods to be a source of protein and n-3 fatty acids. These nutrients are crucial for Generation Z in Poland to attempt to purchase and consume foods containing edible insects that are new to them.
3. The promotion of foods containing edible insects to young consumers in Poland should be based on presenting their nutritional value and emphasizing the role of nutrients in ensuring the health of society.
4. In addition, issues related to ensuring sustainability in food production and reducing greenhouse gas emissions are important for young consumers. Young Poles show concern for food security and environmental sustainability, which correlates with attitudes and intentions to consume and purchase foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal). Hence, food security and environmental sustainability efforts based on studying the willingness of young consumers (Generation Z) to consume "new foods" containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) should be based on reliable information about the products themselves, including their nutritional value, as well as creating opportunities to taste these products.
5. Understanding young consumers' intentions to consume foods containing edible insects combined with their experiences with them is the most effective way to encourage consumers to purchase and consume foods containing insects.
6. The results obtained can contribute to efforts to promote the legitimacy of producing new foods containing edible insects in their composition.
7. Future research should take into account several other factors, including: gender, age, ethnic, cultural and religious background and a level of education, food neophobia, the feeling of disgust, the price of a product, the form of insects proposed for consumption, and food safety, which may affect the acceptance of insects as food by consumers in Poland.

Acknowledgments

This article presents the results of research carried out as part of the research project of the Maritime University of Gdynia - number: WZNJ/2024/PZ/01.

References

- [1] Akhtar Y., Isman M.B.: Insects as an alternative protein source. In *Proteins in Food Processing*, in Yada R.Y. (Ed.): Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2018, pp. 263-288.
- [2] European Union. Regulation (EU) 2015/2283. Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2015 on novel foods, amending Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council and repealing Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council and Commission Regulation (EC) No 1852/2001. *The Official Journal of the European Union* 2015, L327, 1–22.
- [3] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) *Building a Common Vision for Sustainable Food and Agriculture: Principles and Approaches* 2014.
- [4] Gantner M., Sadowska A., Piotrowska A., Kulik K., Sionek B., Kostyra E.: Wheat bread enriched with house cricket powder (*Acheta domesticus* L.) as an alternative protein source. *Molecules*, 2024, 29, #711.
- [5] García-Segovia P., Igual M., Noguerol A.T., Martínez-Monzó J.: Use of insects and pea powder as alternative protein and mineral sources in extruded snacks. *Eur. Food Res. Technol.*, 2020, 246, 703-712.
- [6] Guiné R.P.F., Duarte J., Chuck-Hernández C., Boustani N.M., Djekic I., Bartkiene E., Sarić M.M., Papageorgiou, M., Korzeniowska M., Combarros-Fuertes P., et al.: Validation of the scale knowledge and perceptions about edible insects through structural equation modelling. *Sustainability*, 2023, 15, #2992.
- [7] Guiné R.P.F., Florença S.G., Anjos O., Boustani N.M., Chuck-Hernández C., Sarić M.M., Ferreira M., Costa C.A., Bartkiene E., Cardoso A.P., Cernelić-Bizjak M., Martin-Hadmas R., Straumite E., Damarli E., Florença S.G., Ferreira M., Costa C.A., Correia P.M.R., Cardoso A.P., Campos S., Anjos O.: Are consumers aware of sustainability aspects related to edible insects? Results from a study involving 14 countries. *Sustainability*, 2022, 14, #14125.
- [8] Guiné R.P.F., Correia P., Coelho C., Costa C.A.: The role of edible insects to mitigate challenges for sustainability. *Open Agri.*, 2021, 6(1), 24-36.
- [9] Gumul D., Oracz J., Kowalski S., Mikulec A., Skotnicka M., Karwowska K., Arczuk A.: Bioactive compounds and antioxidant composition of nut bars with addition of various edible insect flours. *Molecules*, 2023, 28, #3556.
- [10] Jantzen da Silva L.A., Menegon de Oliveira L., da Rocha M., Prentice C.: Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. *Food Chem.*, 2020, 311, #126022.
- [11] Kornher L., Schellhorn M., Vetter S.: Disgusting or innovative-consumer willingness to pay for insect based burger patties in Germany. *Sustainability*, 2019, 11, #1878.
- [12] Kowalski S., Mikulec A., Mickowska B., Skotnicka M., Mazurek A.: Wheat bread supplementation with various edible insect flours. Influence of Chemical Composition on Nutritional and Technological Aspects. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2022, 159, #113220.
- [13] Kowalski S., Mikulec A., Skotnicka M., Mickowska B., Makarewicz M., Sabat R., Wywrocka-Gurgul A., Mazurek A.: Effect of the addition of edible insect flour from yellow mealworm (*Tenebrio Molitor*) on the sensory acceptance, and the physicochemical and textural properties of sponge cake. *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 2022, 72, 393-405.
- [14] Kowalski S., Oracz J., Skotnicka M., Mikulec A., Gumul D., Mickowska B., Mazurek A., Sabat R., Wywrocka-Gurgul A., Żyżelewicz D.: Chemical composition, nutritional value, and acceptance of

- nut bars with the addition of edible insect powder. *Molecules*, 2022, 27, 8472.
- [15] Kröger T., Dupont J., Büsing L., Fiebelkorn F.: Acceptance of insect-based food products in Western Societies: A systematic review. *Front. Nutr.*, 2022, 8, #759885.
- [16] Lange K.W., Nakamura Y.: Edible insects as future food: chances and challenges. *J. Future Foods*, 2021, 1, 38-46.
- [17] Lee J.S., Hsu L.T., Han H., Kim Y.: Understanding how consumers view green hotels: how a hotel's green image can influence behavioral intentions. *J. Susta. Tour.*, 2010, 18(7), 901-914.
- [18] Likert R.A.: Technique for the measurement of attitudes. *Archiv. Psychol.*, 1932, 22, 5-55.
- [19] Lim S.M., Thien C.N., Toure A.K., Poh B.K.: Factors influencing acceptance of grasshoppers and other insects as food: A comparison between two cities in Malaysia. *Foods*, 2022, 11, #3284.
- [20] Matiza Ruzengwe F., Nyarugwe S.P., Manditsera F.A., Mubaiwa J., Cottin S., Matsungu T.M., Chopera P., Ranawana V., Fiore A., Macheke L.: Contribution of edible insects to improved food and nutrition security: A review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2022, 57, 6257-6269.
- [21] Mazurek A., Palka A., Skotnicka M., Kowalski S.: Consumer attitudes and acceptability of wheat pancakes with the addition of edible insects: Mealworm (*Tenebrio molitor*), Buffalo Worm (*Alphitobius diaperinus*) and Cricket (*Acheta domesticus*). *Foods*, 2023, 12(1), #1.
- [22] Megido R.C., Gierts C., Blecker C., Brostaux Y., Haubruge É., Alabi T., Francis F.: Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. *Food Quality and Preference*, 2016, 52, 237-243.
- [23] Mikulec A., Platta A., Radzyńska M., Ruskowska M., Mikulec K., Suwała G., Kowalski St., Kowalczewski P.L., Nowicki M.: Attitudes and purchase intentions of polish university students towards food made from insects - a modelling approach. *PLoS ONE*, 2024.
- [24] Modlinska K., Adamczyk D., Maison D., Goncikowska K., Pisula, W.: Relationship between acceptance of insects as an alternative to meat and willingness to consume insect-based food—A study on a representative sample of the Polish population. *Foods*, 2021, 10, #2420.
- [25] OECD/FAO. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2020–2029*; FAO: Rome, Italy; OECD Publishing: Paris, France, 2020.
- [26] Pauter P., Różańska M., Wiza P., Dworzak S., Grobelna N., Sarbak P., Kowalczewski P.L.: Effects of the replacement of wheat flour with cricket powder on the characteristics of muffins. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2018, 17, 227-233.
- [27] Piwowar A., Wolańska W., Orkusz A., Kapelko M.: Harasym, J. Modelling the factors influencing Polish consumers' approach towards new food products on the market. *Sustainability*, 2023, 15, #2818.
- [28] Platta A., Mikulec, A., Radzyńska M., Ruskowska M., Suwała G., Zborowski M., Kowalczewski P.L., Nowicki M.: Body image and willingness to change it - A study of university students in Poland. *PLoS ONE*, 2023, 18(11), #0293617.
- [29] Platta A., Mikulec, A., Radzyńska M., Ruskowska M., Suwała G.: Eating-related health behaviors and body perception: a study of young adults in Poland. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2023, 30, 2(135), 122-143.
- [30] Reeds P.J.: Dispensable and indispensable amino acids for humans. *J. Nutr.*, 2000, 130, 1835S-1840S.
- [31] Ribeiro J.C., Sposito Gonçalves A.T., Moura A.P., Varela P., Cunha L.M.: Insects as food and feed in Portugal and Norway – Cross-cultural comparison of determinants of acceptance. *Food Qual. Preferen.*, 2022, 102, #104650.
- [32] Rothman N.B., Pratt M.G, Rees L., Vogus T.J.: Understanding the dual nature of ambivalence: Why and when ambivalence leads to good and bad outcomes. *The Academy of Management Annals*,

- 2017, 11(1), 33-72.
- [33] Ruskowska M., Tańska M., Kowalczewski P.L.: Extruded corn snacks with cricket powder: Impact on physical parameters and consumer acceptance. *Sustainability*, 2022, 14, #16578.
- [34] Sogari G, Bogueva D., Marinova D.: Australian consumers' response to insects as food. *Agriculture*, 2019, 9, #108.
- [35] Skotnicka M., Karwowska K., Kłobukowski F., Borkowska A., Pieszko M.: Possibilities of the development of edible insect-based foods in Europe. *Foods*, 2021, 10, #766.
- [36] Tanga C.M., Egonyu J.P., Beesigamukama D., Niassy S., Emily K., Magara H.J.: Omuse, E.R.; Subramanian, S.; Ekesi, S. Edible insect farming as an emerging and profitable enterprise in East Africa. *Current Opinion in Insect Science*, 2021, 48, 64-71.
- [37] Turunen L. L. M., Pöyry E.: Shopping with the resale value in mind: A study on second-hand luxury consumers. *Int. J. Consum. Stud.*, 2019, 43(6), 549-556.
- [38] Twenge J.M. *IGen: Why Today's Super-Connected Kids Are Growing Up Less Rebellious, More Tolerant, Less Happy—and Completely Unprepared for Adulthood—and What That Means for the Rest of Us*; Simon and Schuster: New York, NY, USA, 2017. ISBN 978-1-5011-5198-9
- [39] Wang Y., Wiegerinck V., Krikke H., Zhang H.: Understanding the purchase intention towards remanufactured product in closed-loop supply chains: An empirical study in China. *Int. J. Phys. Distribut.*, 2013, 43(10), 866-888.
- [40] Wilkinson K., Muhlhausler B., Motley C., Crump A., Bray H., Ankeny R.: Australian consumers' awareness and acceptance of insects as food. *Insects*, 2018, 9, #44.
- [41] van Harreveld F., Nohlen H. U., Schneider I. K.: The ABC of ambivalence: Affective, behavioral, and cognitive consequences of attitudinal conflict. *Advances in Experimental Social Psychology*, 2015, 52, 285-324.
- [42] van Huis A., van Itterbeeck J., Klunder H., Esther Mertens E., Halloran A., Muir G., Vantomme P.: *Edible insects: future prospects for food and feed security*. FAO, Rome, 2013.
- [43] Verbeke W.: Profiling consumers who are ready to adopt insects as a meat substitute in a Western society. *Food Qual. Preferen.*, 2015, 39, 147-155.


OWADY JADALNE JAKO POTENCJALNY PRODUKT SŁUŻĄCY OSIĄGNIĘCIU BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCIOWEGO. CZĘŚĆ 1

Streszczenie

Wprowadzenie. Wykorzystanie owadów jadalnych jako źródła żywności dla ludzi stwarza liczne wyzwania demograficzne, środowiskowe, ekonomiczne i etyczne dla wielu społeczeństw. Konsumpcja żywności zawierającej w swoim składzie jadalne owady wymaga przede wszystkim jej akceptacji wśród konsumentów. Celem badania było ustalenie, czy postawy i intencje młodych konsumentów w Polsce (pokolenie Z) wobec żywności zawierającej w swoim składzie owady jadalne (świeże, mrożone, suszone, sproszkowane np. mączkę) mogą wpływać na troskę o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy na świecie. Badanie przeprowadzono za pomocą specjalnie zaprojektowanego kwestionariusza, w którym zamieszczono stwierdzenia (15) zaadaptowane z publikacji naukowych innych autorów odnoszące się do: postaw wobec żywności z owadów (4), intencji zakupu żywności z owadów (4), gotowości do zapłaty wyższej ceny za żywność zawierającą owady, której wytwarzanie uwzględnia dbałości o środowisko (1), troski o bezpieczeństwo żywnościowe (4) i zrównoważony rozwój środowi-

skowy (2 items). Respondenci podczas badania wyrażali poziom aprobaty lub dezaprobaty wobec wszystkich zamieszczonych pozycji, posługując się 5-stopniową skalą Likerta.

Wyniki i dyskusja. Na podstawie badań ankietowych przeprowadzonych wśród młodych ludzi można stwierdzić, że akceptacja żywności zawierającej w swoim składzie owady jadalne, jako rozwiązania lub wsparcia problemu globalnego braku bezpieczeństwa żywnościowego, jest związana z postawami i intencjami spożywania i zakupu żywności zawierającej w swoim składzie owady jadalne (świeże, mrożone, suszone, sproszkowane, np. mączki). Zrozumienie intencji młodych konsumentów do spożywania żywności zawierającej jadalne owady w połączeniu z ich doświadczeniami z jadalnymi owadami jest najskuteczniejszym sposobem zachęcania konsumentów do kupowania i spożywania nowej żywności. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do promowania zasadności produkcji nowej żywności zawierającej w swoim składzie jadalne owady.

Słowa kluczowe: zrównoważony rozwój, entomofagia, postawy wobec żywności i żywienia, intencja spożycia, pokolenie Z w Polsce 

ANNA MIKULEC, ANNA PLATTA, MONIKA RADZYMIŃSKA,
GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA,
MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI

EDIBLE INSECTS AS A POTENTIAL PRODUCT FOR ACHIEVING GLOBAL FOOD SECURITY. PART 2

S u m m a r y

Background. Insect consumption (entomophagy) is increasingly becoming the focus of attention, not only for economic reasons, but also due to environmental and health benefits. Achieving environmentally sustainable food security is one of the greatest global challenges today. A wide range of edible insect species, which are rich in protein, fat, minerals, vitamins and dietary fiber, can play a significant role in addressing the issue of global food insecurity. In addition, insect farming can be a sustainable way to produce food. However, consumer acceptance remains a major obstacle to regarding insects as a food source in many countries, including Europe. The purpose of this study was to determine whether health and environmental concerns would be associated with the willingness to consume foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) with the intention of ensuring food security and environmental sustainability. An empirical study was conducted among students at five Polish universities. The survey questionnaire included statements related to attitudes toward natural foods and concerns about health, the environment, food security and environmental sustainability.

Results and conclusions. Respondents' acceptance of foods containing edible insects as a solution to (or support in solving) the problem of global food insecurity was most highly correlated with concern for health and the environment. Gender also differentiated perceptions of food security issues. For women, issues related to the nutritional value of products with edible insects and environmental aspects were sig-

Dr inż. A. Mikulec, ORCID: 0000-0002-2737-5967, Faculty of Engineering Sciences, University of Applied Science in Nowy Sącz, 1a Zamenhofa St., 33-300 Nowy Sącz; dr inż. A. Platta ORCID: 0000-0002-7963-1889, Faculty of Management and Quality Science, Gdynia Maritime University, 81-87 Morska St. 81-225 Gdynia; dr inż. M. Radzyńska ORCID: 0000-0003-0531-268X, Faculty of Economic Sciences, Institute of Management Science and Quality, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 4 Oczapowskiego St., 10-719 Olsztyn; dr. G. Suwała ORCID: 0000-0002-7857-2282, Department of Food Product Quality, Krakow University of Economics, 27 Rakowicka St., 31-510 Kraków; mgr inż. M. Zborowski, ORCID: 0000-0003-2695-2491, Faculty of Health Sciences, University of Applied Science in Nowy Sącz, 2a Kościuszki St., 33-300 Nowy Sącz; dr hab. inż. M. Ruszkowska ORCID: 0000-0002-4488-1087, Faculty of Management and Quality Science, Gdynia Maritime University, 81-87 Morska Street, 81-225 Gdynia; dr inż. M. Nowicki ORCID: 0000-0002-2655-5464, Department of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee, Knoxville TN, USA; dr hab. inż. P.Ł. Kowalczewski ORCID: 0000-0002-0153-4624, Department of Food Technology of Plant Origin, Poznań University of Life Sciences, 31 Wojska Polskiego St., 60-624 Poznań; Kontakt: e-mail: amikulec@ans-ns.edu.pl

nificantly more important than for men. Young people having positive attitudes toward the naturalness of food were significantly more likely than other respondents to agree that implementing the practice of consuming foods that contain edible insects in them could provide access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, ensure sustainability in food production and reduce greenhouse gas emissions.

Keywords: concern for the environment, concern for health, naturalness of food, sustainability, entomophagy, edible insects, willingness to consume, young consumers (generation Z), Poland

Introduction

Edible insects are a regular component of a human diet in many regions of the world. Today, more than 1,900 species of edible insects are consumed worldwide, with more than 100 in Mexico alone, for example, and it is estimated that more than two billion people worldwide regularly consume insects [59]. Commonly consumed insects, according to their percentage of consumption, include *Coleoptera* (beetles) (31 %), *Lepidoptera* (caterpillars) (18 %), *Hymenoptera* (ants, bees and wasps) (14 %), *Orthoptera* (grasshoppers, locusts and crickets) (13 %), *Hemiptera* (cicadas, leafhoppers, planthoppers, scale insects and true bugs) (10 %), *Isoptera* (termites) (3 %), *Odonata* (dragonflies) (3 %) and *Diptera* (flies) (2%) [26]. Today, quite an assortment of insects are consumed in sub-Saharan Africa, Latin America, Australia and South-Eastern Asia. In Africa, for example, insects are an important source of food, providing food security when staple foods such as rice are in short supply or when the availability of food as a source of protein decreases during the rainy season [1, 2, 56, 63].

The development of agriculture in North-Eastern Africa, Western Asia and Europe has led to the domestication of a wide range of animals, which have become the main providers of animal-based food and wool and leather in these regions [8]. This may have contributed to a lack of interest in insects as a food source [8]. Therefore, eating insects has never become accepted in European and North American food culture. Insects in these regions are still sold only as novelty snacks in the niche food sector, mainly in online shops. Eating insects has recently attracted worldwide public attention. Their potential to become major global food of the future has been pointed out [30, 36, 55, 59] due to the presence of high-quality protein, vitamins and minerals [52], as well as economic and environmental benefits [9, 61]. It is assumed that edible insects can successfully become part of a strategy to achieve food security worldwide [9, 61], and especially in the context of more sustainable and environmentally friendly production of nutrient-rich food than that of other animals [9, 22, 60]. Insects are considered a good alternative source of proteins, fats and vitamins, and minerals. They contain essential amino acids such as methionine, cysteine, lysine and threonine [29]. The content of essential amino acids in edible insects ranges from 10 % to 30 %, while the content of all amino acids ranges from 35 % to 50 %. Furthermore, protein digesti-

bility, usually after removal of the exoskeleton, was found to be in the range of 77 ÷ 98 %. Mineral element analyses showed that edible insects are a rich source of phosphorus, calcium, manganese, copper, zinc, sodium, potassium and iron. Edible insects are believed to be a good source of carotene and vitamins such as B1, B2, B6, D, E, K and C [46, 54, 65]. Edible insects contain up to 20 % of sugars and fatty acids [65]. In recent years, attention has also been drawn to the potential of edible insects as not only a source of nutrients, but also of bioactive compounds, including phenolic compounds, tocopherols and phytosterols [20, 28, 44]. Edible insects can also be a rich source of sterols, consisting mainly of phytosterols [5, 45]. A study by Cheseto et al. [5] showed that the desert locust (*Schistocerca gregaria*) consumes phytosterols with plant food and amplifies and metabolizes them into new derivatives with potential health benefits for humans. The chemical composition of edible insects confirms that both insects themselves and products made from them can contribute to improving a human nutritional status and, more broadly, help to deal with malnutrition. Edible insects can therefore be discussed confidently in the context of food security, understood as ensuring that people have access to adequate food quality and quantity [15]. Although there has been an increase in global food security in recent years, the problem of food shortages and malnutrition, resulting from adverse climatic conditions and the increasing cost of animal protein production, is still prevalent in many countries [10, 12].

According to predictions by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), the world's population is estimated to increase to more than 9 billion by 2050, requiring an increase in food production of approximately 100 % [4, 13, 14, 18]. At the same time, there is a reduction in the amount of available land resources needed to produce these foods, which is likely to be exacerbated by climate changes, which are likely to reduce the amount of land available for agriculture and therefore likely to exacerbate the problem of food insecurity [33, 48]. In 2013, the Food and Agriculture Organization of the United Nations began promoting insects as "an unexplored food source that can help address global food insecurity" [13]. However, the limitations and risks of consuming edible insects should be highlighted [24]. Food safety knowledge regarding the use of insects in food production is still limited [53], which is likely to be a barrier to the introduction and promotion of insect use in a human diet in many countries [57]. Similarly to the consumption of other animal or plant products, the consumption of edible insects may be associated with the possibility of a number of factors harmful to human health, such as chemical and biological contaminants or the presence of allergenic substances [42]. The risk of their occurrence is mainly influenced by insect species, the stage of harvesting, feed and production methods [11, 57].

Despite many benefits of entomophagy, consumer acceptance remains a major barrier to promoting edible insect-based foods in western countries. While insects are widely consumed in many regions of the world, their consumption arouses a feeling of disgust/neophobia in many countries [23, 62]. The disgust associated with eating and accepting or rejecting insect consumption is rooted in culturally determined eating habits [37, 38] and plays a major role in people's rejection of a particular food product [16]. An important question, therefore, is whether entomophagy can become part of eating habits. It is worth trying to find an answer to this question and to identify the factors that determine the acceptability of edible insects as a regular part of our diet.

The aim of the study was to determine whether health and environmental concerns and attitudes towards natural foods would be associated with the willingness to eat foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) with the intention of ensuring food security and environmental sustainability.

The study attempted to verify the following research hypotheses:

- H1. Food security resulting from the willingness to consume foods containing edible insects is linked to health and environmental concerns and attitudes towards natural foods.
- H2. Based on the level of concern for food security and environmental sustainability, purchase intentions of food containing insects by young consumers can be predicted by their gender.

Material and methods

The survey-based research presented in this article was conducted as part of an inter-university project in five Polish higher education providers. The empirical survey was conducted among students, using a specially designed questionnaire, through an indirect interview method, via an online platform in the fourth quarter of 2023. Permission to conduct the study was obtained from the University Research Ethics Committee of the Cracow University of Economics No. KEBN/71/0044/D24/2023. In total, 1,087 questionnaires were collected in the research proceedings, after which incomplete and incorrectly completed questionnaires were eliminated (24): seven people did not agree to participate in the study (they did not continue to complete the questionnaire), 15 people refused to answer about gender, and two people entered very large, unrealistic values in the age field. All respondents gave voluntary, informed consent to participate in the study and were assured of its anonymity. Participants in the study were people who stated that they ate all food types and did not limit their consumption of meat or animal products. In the study population, about 61 % of the subjects were women, and about 39 % were men. Positive attitudes towards caring for health and the environment were declared by about 18 % and 22 % of the respondents, respectively. Only 12.99 % of the respondents declared positive attitudes towards natural products, and as many as

66.13 % declared ambivalent attitudes. The structure of the survey sample (N = 1,063 respondents) is shown in Table 1.

Table 1. Characteristics of the respondents (N = 1,063)

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy respondentów (N = 1,063)

Variables / Zmienne	Number of people / Liczba osób	[%]
Gender / Płeć		
Men / Mężczyźni	414	38.95
Women / Kobiety	649	61.05
Attitudes towards health concerns / Postawy wobec troski o zdrowie		
Negative / Negatywna	167	15.71
Ambivalent / Obojętna	703	66.13
Positive / Pozytywna	193	18.16
Attitudes towards naturalness of products / Postawy wobec naturalności produktów		
Negative / Negatywna	222	20.88
Ambivalent / Obojętna	703	66.13
Positive / Pozytywna	138	12.99
Attitudes towards environmental concerns / Postawy wobec troski o środowisko		
Negative / Negatywna	164	15.43
Ambivalent / Obojętna	666	62.65
Positive / Pozytywna	233	21.92

The questionnaire used in this study was constructed in such a way that the variables contained in it would provide data that would allow the research objective to be achieved and the research hypotheses included in the study to be verified. In the preparation of the questionnaire, a set of statements adapted from other authors' studies/papers was used. The instrument contained 17 items, measured based on a five-point Likert scale (1 = strongly disagree, 2 = disagree, 3 = have no opinion, 4 = agree and 5 = strongly agree) [31]. The questionnaire was validated by assessing the construct validity and estimating the reliability of the scales used using Cronbach's alpha coefficient. The α value obtained was 0.92, indicating good reliability.

The details of the items in each dimension are given below:

- Items in dimension one – Concern for health: 1. I pay attention to how the foods I choose affect my health; 2. I know which foods are healthy and which are not; 3. When shopping, I choose products that have labels indicating their health benefits [40].
- Items in dimension two – Attitudes towards natural foods: 1. The naturalness of products is an important quality attribute for me; 2. I try to buy organic products; 3.

I try to avoid products with food additives; 4. The quality certification of the food I buy is important to me; 5. The naturalness of production methods is important to me [27].

- Items in dimension three – Concern for the environment: 1. When I buy food, I try to pay attention to how its production affects the environment; 2. I try to avoid food products whose production is harmful to the environment; 3. I am interested in how food production affects the environment [40, 50, 64].
- Items in dimension four – Concern for food security (4 items) and environmental sustainability (2 items) (CFS & ES scale) resulting from the willingness to consume foods containing edible insects in its composition: "Implementing the practice of consuming foods containing edible insects in their composition (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) can solve problems such as: 1. Hunger and malnutrition; 2. Ensuring access to foods with high nutritional value; 3. High demand for protein sources; 4. Ensuring access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids; 5. Sustainability in food production; 6. Reducing greenhouse gas emissions. The second, third and fifth items were adapted from Lim et al. study [32], the fourth and sixth from Guiné et al. study [19], and the first one was additional.
- The empirical material collected was presented in the form of a percentage distribution of the answers given and selected descriptive statistics such as the median, mean and standard deviation. Mean scores for individual questions were compared using the Tukey test. The chi-square test with Yates' correction was conducted to determine the relationship between health and environmental concerns, gender and the willingness to pay a higher price and the willingness to eat food containing edible insects for food security. Spearman's rank correlation analysis was used to determine the relationship between the independent variables (concern for health, attitudes towards natural foods and the environment, gender) and the dependent variable (concern for food security and environmental sustainability). A significance level of $p < 0.05$ was assumed for all statistical analyses. Calculations were performed using Excel 2000 and Statistica 13.3 (Tibco Software, Palo Alto, USA).

Results and discussion

An interesting phenomenon also observed in earlier research by the present authors [39] is the prevailing ambivalent attitude of respondents towards health or environmental concerns. In a world where individuals are constantly exposed to information, the experience of ambivalence has become an inherent part of human existence [58]. It is understood as the coexistence of positive and negative associations within a single attitude [25]. Ambivalent attitudes appear to be common and can persist over long periods of time. Their relationship to behavior has also been widely studied. At

the individual level, ambivalence increases delayed reactions when choices have to be made, prolongs information processing, can affect attitude stability and can even lead to discomfort. It is also worth asking whether ambivalence leads to more resistance or increases susceptibility to persuasion and influence. It seems that ambivalent attitudes are flexible and, depending on the context, can either help individuals to adapt better or prevent them from reaching satisfactory conclusions [51, 58].

An analysis of the relationship between health concerns and food security resulting from respondents' willingness to eat foods containing edible insects in their composition showed significant differences in the responses given to the statements on the scale. Significant differences were observed for the statement that food containing edible insects in its composition can contribute to solving world hunger and malnutrition ($p = 0.04$). It is noteworthy that regardless of attitudes towards health concerns, almost half of the respondents declared that edible insects can be a valuable source of food with high nutritional value (Table 2). The respondents were found to differ significantly in their perceptions of food containing edible insects as: food contributing to the demand for protein ($p = 0.04$), being a good source of n-3 fatty acids, ($p < 0.01$), food whose production is sustainable ($p < 0.01$) and contributing to the reduction of greenhouse gas emissions ($p < 0.01$). The respondents with positive attitudes towards health, compared to the respondents with negative and ambivalent attitudes, were more likely to answer 'yes' to all questions on the food security concern scale (Table 2). In addition, a significant correlation was found between the food security concern scale statements: ensuring access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids (0.09), sustainability in food production (0.07) and reducing greenhouse gas emissions (0.11), and attitudes towards health concern. It can therefore be concluded that people who are more concerned about their health also pay more attention to the quality of the food they eat and how its production affects the environment. Similar relationships were found by Kornher et al. [27], Mikulec et al. [39] and Modlińska et al. [40]. The authors found that consumers' willingness to adopt insects in their diet is strongly related to attitudinal variables such as preference for an environmentally friendly production method and health aspects [27, 39, 40]. According to Costa-Neto [6], insects are medicinal resources for humans in many cultures around the world because they contain a variety of biologically active compounds, e.g. peptides [21, 66], polysaccharides [34, 41], chitin [29] and phenolic compounds [3, 44], which have a variety of health-promoting or protective properties, namely antioxidant, antihypertensive, anti-inflammatory, antimicrobial or immunomodulatory. The therapeutic potential of insects also includes analgesic, antimicrobial, diuretic, anaesthetic and antirheumatic properties [6]. Thus, insects are not only a source of nutrients for the human body, but can also provide compounds that can be transformed into ingredients for functional foods or nutraceuticals [19].

Table 2. Levels of acceptance (rated on a five-point scale, ranging from 1 – "strongly disagree" to 5 – "strongly agree") of various forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the segmentation of young consumers according to their level of health concern

Tabela 2. Poziomy akceptacji (oceniane na 5-punktowej skali, od 1 - "zdecydowanie nie zgadzam się" do 5 - "zdecydowanie zgadzam się") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od poziomu troski o zdrowie

Statements - CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	Scale of health concerns / Skala troski o zdrowie																	Spearman's R / R Speara- mana ***
	No/ Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes / Tak			Chi2	Median / Mediana			Mean±SD / Średnia ±SD **				
	[%]										N	A	P	N	A	P		
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P									
HM	39.19	30.58	37.68	19.37	26.32	19.57	41.44	43.10	42.75	Chi2=9.52; df=4; p=0.04	2.00	2.00	2.00	2.02 ^a ±0.90	2.13 ^a ±0.85	2.05 ^a ±0.90	0.02	
PC-FHNV	31.53	23.47	29.71	22.97	26.74	18.84	45.50	49.79	51.45	Chi2=9.25; df=4; p=0.06	2.00	2.00	3.00	2.14 ^a ±0.87	2.26 ^a ±0.82	2.22 ^a ±0.88	0.04	
HD-PS	29.73	21.47	20.29	18.02	25.04	21.01	52.25	53.49	58.70	Chi2=9.95; df=4; p=0.04	3.00	3.00	3.00	2.23 ^a ±0.88	2.32 ^a ±0.81	2.38 ^a ±0.80	0.05	
PC-FHCn- 3FA	34.68	23.76	25.36	32.44	37.98	27.54	32.88	38.26	47.10	Chi2=16.08; df=4; p<0.01	2.00	2.00	2.00	1.98 ^a ±0.82	2.15 ^{ab} ±0.77	2.22 ^{ba} ±0.83	0.09	
SFP	36.94	26.17	29.71	30.18	38.69	25.36	32.88	35.14	44.93	Chi2=18.28; df=4; p<0.01	2.00	2.00	2.00	1.96 ^a ±0.84	2.09 ^a ±0.78	2.15 ^a ±0.85	0.07	
RGGE	36.04	24.18	25.37	30.18	35.42	22.46	33.78	40.40	52.17	Chi2=22.18; df=4; p<0.01	2.00	2.00	3.00	1.98 ^a ±0.84	2.16 ^b ±0.79	2.27 ^b ±0.84	0.11	

Explanatory notes: *N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude – attitude scale towards food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p < 0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia: *N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – skala postaw wobec żywności zawierającej jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS - wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych

The declared attitudes of the surveyed group of young consumers towards the naturalness of food significantly differentiated the respondents' attitudes towards selected issues related to food security and environmental sustainability. No significant differences ($p > 0.05$) were observed in the frequency of individual responses to variables arising from the willingness to consume food containing edible insects to address issues such as hunger and malnutrition and to ensure access to nutritious food (Table 3).

In contrast, significant differences were observed for the frequency of responses to statements related to the practice of consuming foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered, e.g. meal) to address issues such as ensuring high demand for protein sources ($p = 0.04$), ensuring access to foods containing n-3 fatty acids ($p < 0.01$), ensuring sustainability in food production ($p < 0.01$) and reducing greenhouse gas emissions ($p < 0.01$). The respondents characterized by negative attitudes towards the naturalness of food were significantly more likely to answer 'no' to the above statements compared to the other respondents, and in particular disagreed with the statements: implementing the practice of consuming food containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) can provide access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids (34.69 %), ensure sustainability in food production (36.94 %) and reduce greenhouse gas emissions (36.04 %). In contrast, the respondents with positive attitudes towards food naturalness were significantly more likely to answer 'yes' to the three statements presented above (47.10 %, 44.93 % and 52.17 %, respectively) (Table 3). The mean values calculated from the sum of the scores obtained for the individual statements on the scale of concern for food security and environmental sustainability (scale CFS & ES) also differed significantly for the respondents with declared negative attitudes towards food naturalness compared to those with declared ambivalent and positive attitudes in their responses to the statements, that the consumption of foods containing edible insects can ensure a high demand for protein sources, access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, and sustainability in food production and reduction of greenhouse gas emissions. In addition, a significant positive correlation (0.07 to 0.12) was observed between the attitudes of young consumers (generation Z) towards natural foods if they were the answer to solving problems such as: hunger and malnutrition, ensuring high demand for protein sources and providing access to foods rich in n-3 fatty acids, and that the consumption of natural foods would contribute to sustainability in food production and the reduction of greenhouse gas emissions (Table 3).

Table 3. Acceptance levels (assessed on a five-point scale, from 1 – “*definitely no*” to 5 – “*definitely yes*”) for different forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the segmentation of young consumers according to attitudes towards the naturalness of food

Tabela 3. Poziomy akceptacji (oceniane na 5-punktowej skali, od 1 - "zdecydowanie nie zgadzam się" do 5 - "zdecydowanie zgadzam się") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od postaw wobec naturalności żywności

Statements – CFS & ES Scale****/ Stwierzenia – skala CFS & ES	Scale of attitudes towards naturalness of food / Skala postaw wobec naturalności żywności																
	No / Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes / Tak			Chi ²	Median / Mediana			Mean±SD**/ Średnia±SD			Spearman's R / R Spear- mana ***
	[%]										N	A	P	N	A	P	
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P								
HM	39.19	30.58	37.68	19.37	26.32	19.57	41.44	43.10	42.75	Chi ² =9.52; df=4; p=0.06	4.00	4.00	4.00	2.94 ^a ±1.29	3.09 ^a ±1.20	3.02 ^a ±1.41	0.03
PC-FHNV	31.53	23.47	29.71	22.97	26.74	18.84	45.50	49.79	51.45	Chi ² =9.25; df=4; p=0.06	4.00	4.00	4.00	3.07 ^a ±1.27	3.26 ^a ±1.17	3.23 ^a ±1.36	0.05
HD-PS	29.73	21.48	20.29	18.02	25.04	21.01	52.25	53.48	58.70	Chi ² =9.95; df=4; p=0.04	4.00	4.00	4.00	3.16 ^a ±1.28	3.34 ^a ±1.14	3.47 ^a ±1.32	0.07
PC-FHCn- 3FA	34.69	23.76	25.36	32.43	37.98	27.54	32.88	38.26	47.10	Chi ² =16.08; df=4; p<0.01	3.00	3.00	4.00	2.88 ^a ±1.17	3.09 ^b ±1.06	3.23 ^b ±1.31	0.10
SFP	36.94	26.17	29.71	30.18	38.69	25.36	32.88	35.14	44.93	Chi ² =18.28; df=4; p<0.01	3.00	3.00	4.00	2.81 ^a ±1.21	3.03 ^b ±1.09	3.18 ^b ±1.38	0.09
RGGE	36.04	24.18	25.37	30.18	35.42	22.46	33.78	40.40	52.17	Chi ² =22.18; df=4; p<0.01	3.00	3.00	4.00	2.86 ^a ±1.28	3.15 ^b ±1.14	3.36 ^b ±1.41	0.12

Explanatory notes: *N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude – attitude scale towards food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p < 0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for

Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia: *N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – skala postaw wobec żywności zawierającej jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS - wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych

Table 4. Levels of acceptance (rated on a five-point scale, ranging from 1 – "strongly disagree" to 5 – "strongly agree") of various forms of concern for food security and environmental sustainability as a function of the segmentation of young consumers according to their level of concern for the environment.

Tabela 4. Poziomy akceptacji (oceniane na 5-punktowej skali, od 1 - "zdecydowanie nie zgadzam się" do 5 - "zdecydowanie zgadzam się") dla różnych form troski o bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy jako funkcja segmentacji młodych konsumentów w zależności od poziomu troski o środowisko

Statements – CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	Scale of concern for the environment / Skala troski o środowisko																
	No / Nie			I have no opinion / Nie mam zdania			Yes / Tak			Chi2	Median / Mediana			Mean±SD** / Średnia±SD			Spearman's R / R Spear- mana ***
	[%]										N	A	P	N	A	P	
	N*	A	P	N	A	P	N	A	P								
HM	48.78	31.83	26.61	16.46	28.08	17.60	34.76	40.09	55.79	Chi2=39.44; df=4; $p<0.01$	2.00	2.00	3.00	1.86 ^a ±0.91	2.08 ^b ±0.84	2.29 ^c ±0.86	0.20
PC-FHNV	41.46	25.07	17.60	21.34	27.33	20.60	37.20	47.60	61.80	Chi2=36.92; df=4; $p<0.01$	2.00	2.00	3.00	1.96 ^a ±0.89	2.23 ^b ±0.82	2.44 ^c ±0.78	0.21
HD-PS	36.59	22.97	13.74	17.68	25.53	19.74	45.37	51.50	66.52	Chi2=35.69; df=4; $p<0.01$	2.00	3.00	3.00	2.09 ^a ±0.91	2.29 ^a ±0.82	2.53 ^b ±0.73	0.21

PC-FHCn-3FA	38.41	25.68	19.31	29.27	40.09	26.61	32.32	34.23	54.08	Chi2=42.26; df=4; <i>p</i> <0.01	2.00	2.00	3.00	1.94 ^a ±0.84	2.09 ^a ±0.77	2.35 ^b ±0.78	0.22
SFP	43.90	28.38	19.74	30.49	38.74	28.33	25.61	32.88	51.93	Chi2=47.17; df=4; <i>p</i> <0.01	2.00	2.00	3.00	1.82 ^a ±0.82	2.05 ^b ±0.78	2.32 ^c ±0.78	0.24
RGGE	42.68	26.57	16.31	31.71	35.89	24.03	25.61	37.54	59.66	Chi2=62.38; df=4; <i>p</i> <0.01	2.00	2.00	3.00	1.83 ^a ±0.81	2.11 ^b ±0.79	2.43 ^c ±0.76	0.28

Explanatory notes: *N – negative attitude, A – ambivalent attitude, P – positive attitude – attitude scale towards food containing edible insects; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p < 0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia: *N – postawa negatywna, A – postawa ambiwalentna, P – postawa pozytywna – skala postaw wobec żywności zawierającej jadalne owady; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywność o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS – wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywność o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych

As demonstrated by results from previous studies, the highest likelihood of consuming insect-based foods was observed among people with low levels of food neophobia and low disgust sensitivity, but with high levels of variety-seeking tendencies [40, 49]. Motivations related to food choice, such as convenience, health and ecological well-being, had a minimal influence on the acceptance of insects as food and feed among Norwegian and Portuguese residents [49]. In contrast, international travel is an important factor influencing Polish consumers' perceptions of food product innovation among 20 ÷ 44-year-olds. Tourist experience is an important factor in food awareness, a source of knowledge about the positive characteristics of new foods, and a demand factor that determines the willingness to accept these innovations [47].

Concern for the environment was found to be a factor significantly ($p < 0.01$) influencing all food security measurement items in terms of the willingness to eat food containing edible insects (Table 4). Individuals with a positive attitude towards environmental concern were significantly more likely to answer 'yes' to individual statements on the food security concern scale, and the mean value from the number of points obtained was also significantly higher compared to individuals with ambivalent and negative attitudes towards environmental concern (Table 4). Weak positive significant correlations (ranging from 0.20 to 0.28) were also observed between environmental concern and issues regarding the willingness to eat food containing edible insects in the context of ensuring food security (Table 4). Thus, as concern for the environment increases in respondents, concern for food security resulting from the willingness to consume food containing edible insects in its composition increases. The results obtained for young consumers in Poland are in line with research conducted among consumers in Germany [27]. Kornher et al. [27] indicate that the willingness to consume insects is highly correlated with the demand for low-carbon products. Perhaps, consumers are already aware that growing and consuming insects can provide a solution to environmental and health problems [19, 27].

Table 5. Gender implications for food security and environmental sustainability resulting from young consumers' willingness to eat foods with edible insects in their composition

Tabela 5. Wpływ płci na bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy wynikające z gotowości młodych konsumentów do spożywania żywności zawierającej w swoim składzie owady jadalne

Statements - CFS & ES Scale****/ Stwierdzenia – skala CFS & ES	Gender/ Płeć											
	No / Nie		I have no opinion / Nie mam zdania		Yes / Tak		Chi ²	Median / Mediana		Mean±SD**/ Śred- nia±SD		Spearman's R / R Spear- mana ***
	[%]							M	W	M	W	
	M*	W	M	W	M	W						
HM	35.75	31.74	22.22	25.12	42.03	43.14	Chi ² =2.17; df=2; p=0.34	2.00	2.00	2.06 ^a ±0.88	2.11 ^a ±0.86	0.03
PC-FHNV	30.19	23.27	25.12	24.81	44.69	51.92	Chi ² =7.33; df=2; p=0.03	2.00	3.00	2.14 ^a ±0.85	2.29 ^b ±0.82	0.08
HD-PS	26.09	21.11	21.98	23.73	51.93	55.16	Chi ² =3.51; df=2; p=0.17	3.00	3.00	2.26 ^a ±0.85	2.34 ^a ±0.80	0.04
PC-FHCn-3FA	32.13	22.50	36.71	34.67	31.16	42.83	Chi ² =18.28; df=2; p<0.01	2.00	2.00	1.99 ^a ±0.80	2.20 ^b ±0.78	0.13
SFP	32.85	26.35	34.78	35.44	32.37	38.21	Chi ² =7.11; df=2; p=0.04	2.00	2.00	2.00 ^a ±0.81	2.12 ^b ±0.80	0.07
RGGE	32.85	22.96	31.16	33.59	35.99	43.45	Chi ² =13.01; df=2; p<0.01	2.00	2.00	2.03 ^a ±0.83	2.20 ^b ±0.79	0.10

Explanatory notes: *M – men, W – women; ** Values marked with different letters in rows are significantly different $p < 0.05$; *** bold values are statistically significant; **** Statements – CFS & ES Scale (Concern for Food Security and Environmental Sustainability Scale): HM – hunger and malnutrition, PC-FHNV – providing access to foods with high nutritional value, HD-PS – high demand for protein sources, PC-FHCn-3FA – providing access to foods with high concentrations of n-3 fatty acids, SFP – sustainability in food production, RGGE – reducing greenhouse gas emissions.

Objaśnienia: *M – mężczyźni, W – kobiety; ** Wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie $p < 0.05$; *** pogrubione wartości są statystycznie istotne; **** Stwierdzenia skali CFS & ES (Skala Troski o Bezpieczeństwo Żywnościowe i Zrównoważony Rozwój Środowiskowy): HM – głód i niedożywienie, PC-FHNV – zapewnienie dostępu do żywności o wysokiej wartości odżywczej, HD-PS – wysoki popyt na źródła białka, PC-FHCn-3FA – zapewnienie dostępu do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, SFP – zrównoważony rozwój w produkcji żywności, RGGE – zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych

However, according to Modlinska et al. [40], educating people about the sustainable properties of insect-based foods and targeting marketing strategies to this characteristic is not enough to convince consumers to buy and eat insects. Insects seem to be a suitable alternative to meat only in theory. Familiarity with the idea of eating insects increases acceptance of the basic concept of replacing meat with edible insects, but does not influence the willingness to try real insect-based foods [40]. Understanding which factors may influence consumer perceptions of edible insects plays a key role in the future prospects of entomophagy and, consequently, the production and consumption of new food proteins. According to Mancini et al. [35], in order to achieve this goal, communication with potential young consumers (based on a study conducted among students in Italy) is crucial. Organizing informative tasting sessions is a good method to influence people to try insect-based foods for the first time.

An analysis of the effect of respondents' gender on their attitudes towards food security concerns resulting from their willingness to eat food containing edible insects showed that women were significantly more likely than men to express the willingness to eat food containing edible insects if it had: high nutritional value ($p = 0.03$), was a source of n-3 fatty acids ($p < 0.01$), was sustainable in food production ($p = 0.04$) and significantly reduced greenhouse gas emissions ($p < 0.01$). For these statements, a significant positive correlation was also observed, confirming that female respondents were more attentive to the above-mentioned issues in terms of their perception of the role that food containing edible insects could play to contribute to global food security (Table 5). Our results are in line with those of previous studies; although men are more familiar with entomophagy and more willing to accept the idea of insects as a meat substitute, they are not more likely to consume them than women [40]. Florença et al. [17] highlighted that people's motivations for consuming edible insects are driven by the geographic location of the countries in which they live. Therefore, market segmentation and consumer characteristics must be taken into account when designing strategies to encourage the consumption of edible insects as part of a global strategy for the sustainability of food systems.

Conclusions

Despite their nutritional and environmental potential, insect-based foods are rarely accepted by young consumers in Poland. There is a gap between consumers' understanding of the need to reduce meat consumption and their personal attitudes and intentions to consume and purchase foods containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal). The consumers who declared their acceptance of the idea of edible insects as a substitute for meat may be reluctant to buy insects for their own consumption. This study aimed to determine whether health and environmental concerns are linked to the willingness of young consumers in Poland (generation Z) to

consume food containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) with the intention of ensuring food security and environmental sustainability. The results of the research allow us to better understand the attitudes and expectations of young consumers in Poland towards new, innovative foods containing edible insects in their composition. Generation Z's acceptance of food containing edible insects as a solution to (or support in solving) the problem of global food insecurity was most strongly correlated with concerns about health and the environment. Gender also differentiated perceptions of food safety issues among Generation Z. For women, issues related to the nutritional value of products with edible insects and environmental aspects were significantly more important than for men. Thus, on the basis of the study of young women's attitudes towards food security concerns and environmental sustainability, their intentions to purchase food containing edible insects can be predicted. In addition, young Poles having positive attitudes towards the naturalness of food were significantly more likely, compared to the other respondents, to agree that the implementation of the practice of consuming food containing edible insects (fresh, frozen, dried, powdered ones, e.g. meal) could ensure access to food with a high concentration of n-3 fatty acids, ensure sustainability in food production and reduce greenhouse gas emissions. The results clearly indicate that among young consumers in Poland, it is worthwhile to undertake initiatives/interventions to support activities aimed at ensuring food security, especially in the context of caring for the environment. Hence, our study implies that there is a positive and significant willingness among representatives of Generation Z in Poland to consume products with a low carbon footprint. The implication for producers of insect-based food products would be to focus on highlighting the negative consequences of meat consumption for climate and health, and to create opportunities for tasting foods containing edible insects. The experience of consuming insects acquired in this way would translate into the willingness of young consumers to purchase and consume new, previously unknown foods. The results obtained can contribute to efforts to promote the legitimacy of producing new foods containing edible insects in their composition. Several other factors should be taken into account in future research, including: the scale of experience with edible insects, the frequency of travel for culinary tastings, the level of tendency to seek diversity, an assessment of knowledge about entomophagy, the willingness to participate in culinary workshops using edible insects, and an analysis of factors taken into account when purchasing food that may influence the acceptance of edible insects as food by young consumers (Generation Z) in Poland.

Limitations of the study

However, there are some limitations related to the presented study. The research was conducted in a narrow subjective approach and only among university students

representing but a segment of young buyers. It should also be emphasized that the surveys can generate valuable information, but the actual consumption results may differ significantly from the survey results.

Acknowledgments

This article presents the results of research carried out as part of the research project No. WZNJ/2024/PZ/1 funded by the Faculty of Management and Quality Sciences of the Maritime University of Gdynia.

References

- [1] Bahuchet S., Garine L.D.: Recipes for a forest menu, in: Hladik C.M., Bahuchet S., Garine L.D. (Eds.): Food and nutrition in the African rain forest. UNESCO, Paris, 1990, 53-54.
- [2] Bahuchet S.: Ethnozoologie des Pygmées Babinga de la Lobaye, République Centrafricaine, in: R. Pujol (Ed.): Premier Colloque d'Ethnologie, Institut International d'Ethnoscience. Paris, 1975, 53-61.
- [3] Baigts-Allende D., Doost A.S., Ramirez-Rodrigues M.: Dewettinck K., Van der Meeren P., de Meulenaer B., Tzompa-Sosa D.: Insect Protein Concentrates from Mexican Edible Insects: Structural and Functional Characterization. LWT-Food Sci. Technol., 2021, 152, #112267.
- [4] Belluco S., Losasso C., Maggioletti M., Alonzi C.C., Paoletti M.G., Ricci A.: Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 2013, 12, 296-313.
- [5] Cheseto X., Kuate S.P., Tchouassi D.P., Ndung'u M., Teal P.E.A., Torto B.: Potential of the Desert Locust *Schistocerca gregaria* (*Orthoptera: Acrididae*) as an Unconventional Source of Dietary and Therapeutic Sterols. PLoS ONE, 2015, 10, #0127171.
- [6] Costa-Neto E.M.: Entomotherapy, or the Medicinal Use of Insects. J. Ethnobiol., 2005, 25, 93-114.
- [7] DeFoliart, G. R.: Insects as food: why the western attitude is important. Annu. Rev. Entomol., 2014, 44(1), 21-50.
- [8] Diamond J.M.: Guns, germs and steel: a short history of everybody in the last 13,000 years. Vintage, London, 1998.
- [9] Dobermann D., Swift J. A., Field L. M.: Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. Nutr. Bull., 2017, 42(4), 293-308.
- [10] Dorward A.: The short- and medium-term impacts of rises in staple food prices. Food Sec., 2012, 4, 633-645.
- [11] EFSA Scientific Committee, Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. EFSA J., 2015, 13, #4257.
- [12] FAO: Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2013.
- [13] FAO: Edible insects. Future prospects for food and feed security. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2013.
- [14] FAO: High Level Expert Forum – How to Feed the World in 2050. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2009.
- [15] FAO: Looking at edible insects from a food safety perspective. Challenges and opportunities for the

- sector. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, 2021.
- [16] Fessler D.M.T., Navarrete C.D.: Meat is good to taboo: dietary proscriptions as a product of the interaction of psychological mechanisms and social processes. *J. Cogn. Cult.*, 2003, 3, 1-40.
- [17] Florença S.G., Guiné R.P.F., Gonçalves F.J.A., Barroca M.J., Ferreira, M., Costa C.A., Correia P.M.R., Cardoso, A.P., Campos S., Anjos O., Cunha L.M.: The Motivations for Consumption of Edible Insects: A Systematic Review. *Foods*, 2022, 11, #3643.
- [18] Gladek E., Fraser M., Roemers G., Sabag Muñoz O., Kennedy E., Hirsch P.: The global food system: An analysis. World Wide Fund for Nature. Netherlands, 2017.
- [19] Guiné R.P.F., Duarte J., Chuck-Hernández C., Boustani N.M., Djekic I., Bartkiene E., Sarić M.M., Papageorgiou M., Korzeniowska M., Combarros-Fuertes P., Cernelić-Bizjak M., Martin-Hadmas R., Straumite E., Damarli E., Florença S.G., Ferreira M., Costa C.A., M. R. Correia P., Cardoso A.P., Campos S., Anjos O.: Validation of the scale knowledge and perceptions about edible insects through structural equation modelling. *Sustainability*, 2023, 15, #2992.
- [20] Gumul D., Oracz J., Kowalski S., Mikulec A., Skotnicka M., Karwowska K., Areczuk A.: Bioactive compounds and antioxidant composition of nut bars with addition of various edible insect flours. *Molecules*, 2023, 28(8), #3556.
- [21] Hall F., Reddivari L., Liceaga A.M.: Identification and characterization of edible cricket peptides on hypertensive and glycemic in vitro inhibition and their anti-inflammatory activity on RAW 264.7 Macrophage Cells. *Nutrients*, 2020, 12, #3588.
- [22] Halloran A., Flore R., Vantomme P., Roos, N.: (Eds.): Edible insects in sustainable food systems. Cham: Springer, 2018, pp. 978-983.
- [23] Hartmann M. Siegrist M: Insects as food: perception and acceptance. Findings from current research. *Ernaehr. Umsch.*, 2017, 64, 44-50.
- [24] Imathiu S.: Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS J.*, 2020, 18, 1-11.
- [25] Jonas K., Broemer P., Diehl M.: Attitudinal ambivalence. *Eur Rev Soc Psychol*, 2000, 11, 35-74.
- [26] Jongema Y.: List of edible insect species of the world. Laboratory of Entomology, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 2017.
- [27] Kornher L., Schellhorn M., Vetter S.: Disgusting or innovative-consumer willingness to pay for insect based burger patties in Germany. *Sustainability*, 2019, 11, #1878.
- [28] Kouřimská L., Adámková A.: Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS J.*, 2016, 4, 22-26.
- [29] Kowalski S., Oracz J., Skotnicka M., Mikulec A., Gumul D., Mickowska B., Mazurek A., Sabat R., Wyrocka-Gurgul A., Żyżelewicz D.: Chemical composition, nutritional value, and acceptance of nut bars with the addition of edible insect powder. *Molecules*, 2022, 27, #8472.
- [30] Lange K.W., Nakamura Y.: Edible insects as future food: chances and challenges. *J. Future Foods*, 2021, 1, 38-46.
- [31] Likert R.A.: Technique for the measurement of attitudes. *Archiv of Psychology*, 1932, 22, 5-55.
- [32] Lim S.M., Thien C.N., Toure A.K., Poh B.K.: Factors influencing acceptance of grasshoppers and other insects as Food: A Comparison between two cities in Malaysia. *Foods*, 2022, 11, #3284.
- [33] Lloyd S.J., Kovats R.S., Chalabi Z.: Climate change, crop yields, and undernutrition: development of a model to quantify the impact of climate scenarios on child undernutrition. *Environ. Health Perspect.*, 2011, 119, 1817-1823.
- [34] Malm M., Liceaga A.M.: Physicochemical properties of chitosan from two commonly reared edible cricket species, and its application as a hypolipidemic and antimicrobial agent. *Polysaccharides*, 2021, 2, 339-353.

- [35] Mancini S., Sogari G., Menozzi D., Nuvoloni R., Torracca B., Moruzzo R., Paci G.: Factors predicting the intention of eating an insect-based product. *Foods*, 2019, 8, 270.
- [36] Megido R.C., Gierts C., Blecker C., Brostaux Y., Haubruge É., Alabi T., Francis F.: Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. *Food Qual. Prefer.*, 2016, 52, 237-243.
- [37] Mela D.J.: Food choice and intake: the human factor. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999, 58, 513-521.
- [38] Mignon J.: L'entomophagie: une question de culture? *Tropicultura*, 2002, 20, 151-155.
- [39] Mikulec A., Platta A., Radzymińska M., Ruszkowska M., Mikulec K., Suwała G., Kowalski St., Kowalczewski P.L., Nowicki M.: Attitudes and purchase intentions of polish university students towards food made from insects - a modelling approach. *PLoS ONE*, 2024, 19(3): #0300871.
- [40] Modlinska K., Adamczyk D., Maison D., Goncikowska K., Pisula, W.: Relationship between Acceptance of Insects as an Alternative to Meat and Willingness to Consume Insect-Based Food – A Study on a Representative Sample of the Polish Population. *Foods*, 2021, 10, #2420.
- [41] Mohan K., Ganesan A.R., Muralisankar T., Jayakumar R., Sathishkumar P., Uthayakumar V., Chandrasekar R., Revathi N.: Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends Food Sci. Technol.*, 2020, 105, 17-42.
- [42] Murefu T.R., Macheke L., Musundire R., Manditsera F.A.: Safety of wild harvested and reared edible insects: a review. *Food Control*, 2019, 101, 209-224.
- [43] Nino M.C., Reddivari L., Ferruzzi M.G., Liceaga A.M.: Targeted Phenolic characterization and antioxidant bioactivity of extracts from edible *Acheta domesticus*. *Foods*, 2021, 10, #2295.
- [44] Nino M.C., Reddivari L., Osorio C., Kaplan I., Liceaga A.M.: Insects as a source of phenolic compounds and potential health benefits. *J. Insects as Food Feed.*, 2021, 7, 1077-1087.
- [45] Ochieng B.O., Anyango J.O., Nduko J.M., Cheseto X., Mudalungu C.M., Khamis F.M., Ghemoh C.J., Egonyu P.J., Subramanian S., Nakimbugwe D., Ssepuuya G., Tanga, C. M: Dynamics in nutrients, sterols and total flavonoid content during processing of the edible long-horned grasshopper (*Ruspolia Differentis Serrille*) for food. *Food Chem.*, 2022, 383, #132397.
- [46] Pal P., Roy S.: Edible Insects: Future of Human Food - A Review. *Int. Lett. Nat. Sci.*, 2014, 26, 1-11.
- [47] Piwowar A., Wolańska W., Orkusz A., Kapelko M., Harasym J.: Modelling the factors influencing polish consumers' approach towards new food products on the market. *Sustainability*, 2023, 15, 2818.
- [48] Premalatha M., Abbasi T., Abbasi T. Abbasi S.A.: Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: the use of edible insects. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 2011, 15, 4357-4360.
- [49] Ribeiro J.C., Sposito Gonçalves A.T., Moura A.P., Varela P., Cunha L.M.: Insects as food and feed in Portugal and Norway – Cross-cultural comparison of determinants of acceptance. *Food Qual. Prefer.*, 2022, 102, #104650.
- [50] Roberts J.A.: Green consumers in the 1990s: Profile and implications for advertising. *J. Bus. Res.*, 1996, 36, 217-231.
- [51] Rothman N.B., Pratt M.G, Rees L., Vogus T.J.: Understanding the dual nature of ambivalence: Why and when ambivalence leads to good and bad outcomes. *Acad. Manag. Ann.*, 2017, 11(1), 33-72.
- [52] Rumpold B. A., Schlüter O. K.: Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2013, 57(5), 802-823.
- [53] Schlüter O., Rumpold B., Holzhauser T., Roth A., Vogel R. F., Quasigroch W., Vogel S., Heinz V., Jäger H., Bandick N., Kulling S., Knorr D., Steinberg P., Engel K. H.: Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 2017, 61, #1600520.

- [54] Sun S.S.M.: Application of agricultural biotechnology to improve food nutrition and healthcare products. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2008, 17, Supplement 1, 87-90.
- [55] Sun-Waterhouse D., Waterhouse G. I. N., You L., Zhang J., Liu Y., Ma L., Ga, J., Dong Y.: Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. *Food Res. Int.*, 2016, 89, 129-151.
- [56] Takeda J., Sato H.: Multiple subsistence strategies and protein resources of horticulturists in the Zaire Basin: the Nganda and the Boyela, in: Hladik C.M., Hladik A., Linares O.F., Pagezy H., Semple A., Hadley M. (Eds.): *Tropical forests, people and food: biocultural interactions and applications to development*. UNESCO, Paris, 1993.
- [57] van der Fels-Klerx H.J., Camenzuli L., Belluco S., Meijer N., Ricci A.: Food safety issues related to uses of insects for feeds and foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2018, 17, 1172-1183.
- [58] van Harreveld F., Nohlen H. U., Schneider I. K.: The ABC of ambivalence: Affective, behavioral, and cognitive consequences of attitudinal conflict. *Adv Exp Soc Psychol*, 2015, 52, 285-324.
- [59] Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G, Vantomme P. *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Food and agriculture organization of the United Nations; 2013.
- [60] Van Huis A. *Edible insects contributing to food security?* *Agric. Food Secur.*, 2015, 4,1-9.
- [61] Van Huis A.: Did early humans consume insects? *J. Insects as Food Feed*. 2017, 3(3),161-3.
- [62] Vane-Wright R.I.: Why not eat insects? *Bull. Entomol. Res.*, 1991, 81, 1-4.
- [63] Vantomme P., Göhler D., N'Deckere-Ziangba F.: Contribution of forest insects to food security and forest conservation: the example of caterpillars in Central Africa. 2004, <https://odi.org/documents/2260/3306.pdf> (accessed 25 February 2024).
- [64] Verbeke W.: Profiling consumers who are ready to adopt insects as a meat substitute in a Western society. *Food Qual. Prefer.*, 2015, 39, 147-155.
- [65] Ying F., Ming C.X, Yun W.S., De Y.S., Yong C.: Three edible odonata species and their nutritive value. *Forest Res.*, 2001, 14, 421-424.
- [66] Zielińska E., Baraniak B., Karaś M.: Identification of antioxidant and anti-inflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Gryllobates Sigillatus*, *Tenebrio Molitor*, *Schistocerca Gragaria*). *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2018, 53, 2542-2551.


OWADY JADALNE JAKO POTENCJALNY PRODUKT SŁUŻĄCY OSIĄGNIĘCIU BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCIOWEGO. CZĘŚĆ 2

Streszczenie

Wprowadzenie. Konsumpcja owadów (entomofagia) skupia na sobie uwagę ze względów ekonomicznych, korzyści środowiskowych ale także zdrowotnych. Osiągnięcie zrównoważonego środowiskowo bezpieczeństwa żywnościowego obecnie stanowi jedno z największych globalnych wyzwań. Szeroka gama gatunków owadów jadalnych, które cechują się dużą zawartością białka, tłuszczu, składników mineralnych, witamin i błonnika pokarmowego, może odegrać znaczącą rolę w rozwiązaniu problemu braku bezpieczeństwa żywnościowego na świecie. Dodatkowo hodowla owadów może stanowić zrównoważony sposób produkcji żywności. Jednak akceptacja konsumentów pozostaje główną przeszkodą w przyjęciu owadów jako źródła pożywienia w wielu krajach, m.in. Europy. Celem badania było ustalenie, czy troska o zdrowie i środowisko będzie powiązana z gotowością do spożywania żywności zawierającej w swoim składzie jadalne owady (świeże, mrożone, suszone, sproszkowane np. mączkę) zamiarem zapewnienia

bezpieczeństwa żywnościowego i zrównoważonego rozwoju środowiskowego. Badanie empiryczne przeprowadzono wśród studentów pięciu polskich uczelni wyższych. W kwestionariuszu ankiety zamieszczono stwierdzenia odnoszące się do postaw wobec żywności naturalnej oraz troski o zdrowie, środowisko, bezpieczeństwo żywnościowe i zrównoważony rozwój środowiskowy.

Wyniki i wnioski. Akceptacja przez respondentów żywności zawierającej w swoim składzie jadalne owady, jako rozwiązania bądź wsparcia problemu związanego z brakiem bezpieczeństwa żywnościowego na świecie, w największym stopniu skorelowana była z troską o zdrowie i środowisko. Płeć także różnicowała postrzeganie zagadnień związanych z bezpieczeństwem żywnościowym. Dla kobiet istotnie ważniejsze, niż dla mężczyzn, były kwestie związane z wartością odżywczą produktów z udziałem owadów jadalnych oraz aspekty środowiskowe. Młodzi ludzie charakteryzujący się postawami pozytywnymi wobec naturalności żywności istotnie częściej, w porównaniu do pozostałych badanych, zgadzali się, że wdrożenie praktyki spożywania żywności zawierającej w swoim składzie jadalne owady może zapewnić dostęp do żywności o wysokim stężeniu kwasów tłuszczowych n-3, zapewnić zrównoważony rozwój w produkcji żywności i zmniejszyć emisję gazów cieplarnianych.

Słowa kluczowe: troska o środowisko, troska o zdrowie, naturalność żywności, zrównoważony rozwój, entomofagia, owady jadalne, chęć konsumpcji, młodzi konsumenci (pokolenie Z), Polska 

JAN PIECKO, MONIKA MIESZCZAKOWSKA-FRĄC,
JUSTYNA SZWEJA-GRZYBOWSKA, KAROLINA CELEJEWSKA

WPLYW RODZAJU HOMOGENIZACJI NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE I ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH W MĘTNYM SOKU Z TRUSKAWEK

Streszczenie

Wprowadzenie. Zmętnienie jest istotnym parametrem jakościowym soków owocowych. Sedymentacja cząstek miąższu zawieszonych w soku może powodować negatywną oceną jakości produktu przez konsumentów. W związku z tym stabilizacja zmętnienia stanowi wyzwanie dla producentów soków. W pracy tej wykorzystano dwa rodzaje homogenizacji w celu eliminacji zjawiska rozwarstwiania się soku. Do badań wykorzystano mętny sok z owoców truskawek odmiany „Grandarosa”. Homogenizację wysokociśnieniową przeprowadzono przy pomocy homogenizatora Atomo 3.0 przy wartościach ciśnień 200 i 600 barów. Homogenizację ultradźwiękową przeprowadzono sonikatorem Sonics VCX 750 stosując moc 750W, przez 2 i 8 minut. W próbach soku analizowano rozkład wielkości cząstek metodą dyfrakcji laserowej, lepkość, stabilność zmętnienia, zawartość antocyjanów ogółem, związków fenolowych oraz zawartość kwasu askorbinowego.

Wyniki i wnioski. W przypadku homogenizacji ultradźwiękowej około 70 % obecnych w soku cząstek miało średnicę poniżej 25 μm , podczas gdy w soku niehomogenizowanym frakcja cząstek o średnicy poniżej 25 μm stanowiła 25 %. Homogenizacja wysokociśnieniowa, niezależnie od stosowanego ciśnienia, miała wyższą skuteczność rozbijania cząstek zmętnienia od homogenizacji ultradźwiękowej (około 90 % cząstek miało wielkość poniżej 25 μm). Homogenizacja przy ciśnieniu 200 barów spowodowała wzrost lepkości soku o 135 % (do 6,5 mPa·s) w porównaniu z sokiem niehomogenizowanym. Najwyższym poziomem zmętnienia charakteryzował się sok homogenizowany ultradźwiękowo przez 8 minut, którego zmętnienie wynosiło 2¹¹⁰ NTU. Średnia zawartość antocyjanów ogółem (6,0 mg/100 ml) oraz kwasu askorbinowego (16,8 mg/100 cm³) w soku truskawkowym nie uległa istotnej statystycznie zmianie niezależnie od rodzaju homogenizacji. Homogenizacja wysokociśnieniowa i ultradźwiękowa charakteryzują się wysoką skutecznością zmniejszania wielkości cząstek miąższu w soku z truskawek, przy czym żadna z nich nie powoduje istotnej degradacji antocyjanów i kwasu askorbinowego.

Słowa kluczowe: homogenizacja wysokociśnieniowa, homogenizacja ultradźwiękowa, rozmiar cząstek, zmętnienie, soki owocowe

*Mgr inż. J. Piecko, ORCID: 0000-0001-6838-9364; dr hab., prof. IO M. Mieszczakowska-Frąc ORCID: 0000-0001-8786-7990; dr J. Szejda-Grzybowska ORCID: 0000-0002-1260-5897; dr inż. K Celejewska ORCID: 0000-0003-3113-3722, Zakład Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw, Instytut Ogrodnictwa - Państwowy Instytut Badawczy, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice.
Kontakt e-mail: jan.piecko@inhort.pl*

Wprowadzenie

Pozytywny wpływ spożycia owoców i ich przetworów na zdrowie, a w szczególności owoców jagodowych jest przedmiotem wielu badań naukowych. Wykazano związek ich spożycia ze zdrowiem człowieka m.in. poprzez zapobieganie występowania chorób przewlekłych [20]. Do przetworów owocowych należą m.in. soki. Dostępne produkty z tej kategorii to głównie soki klarowne oraz soki mętne. Produkcja soku klarownego uwzględnia proces klarowania, który wykonuje się po enzymatycznej hydrolizie pektyn. Polega on na usunięciu nierozpuszczalnych substancji stałych, których cząstki tworzą zawiesinę. Jak wykazano, zmętnienie to przede wszystkim cząstki ścian komórkowych, blaszki środkowej i błon komórkowych pochodzące z rozdrobionych tkanek surowca, a więc są to głównie polisacharydy oraz niewielkie ilości białek, lipidów oraz związków polifenolowych [29, 33]. Natomiast sok mętny to produkt poddany procesowi pasteryzacji bezpośrednio po wyłoczeniu poprzedzonej jedynie filtracją usuwającą większe fragmenty miąższu. Do spożycia szczególnie polecane są soki mętne, jednakże badania nad wpływem spożycia soków jabłkowych mętnych i klarownych wskazują, że oba mają pozytywny wpływ na markery związane z chorobami układu krążenia, rakiem oraz chorobami neurodegeneracyjnymi [33]. Jednakże wykazano również, że klarowny sok jabłkowy ma niższą wartość prozdrowotną ponieważ zawiera mniejszą ilość błonnika, związków polifenolowych i innych składników odżywczych niż klarowny sok jabłkowy [29]. Chociaż współczesna dietetyka podkreśla, że jedzenie całych owoców ma wyższe wartości prozdrowotne niż przyjmowanie soków [2], to sok jest formą pokarmu łatwiejszą do spożycia. Dzięki temu można zwiększyć częstotliwość spożycia owoców i poprawić ogólną ich ilość w diecie. Przykładem jest sok z owoców granatu, który wykazuje silne działanie przeciwmiażdżycowe, przeciwnadciśnieniowe, przeciwutleniające oraz przeciwzapalne [31], jednak spożycie owoców w postaci nieprzetworzonej wymaga obrania ich z niejadalnych części. W badaniach dotyczących wpływu spożycia soków jagodowych na stan zdrowia ludzi również potwierdzono ich pozytywny wpływ [10]. Wykazano, że codzienne spożycie soku winogronowego przez okres 2 miesięcy może być skutecznym sposobem na dostarczanie przeciwutleniaczy, zmniejszających uszkodzenia DNA limfocytów w krwi [22]. Wysoki potencjał przeciwutleniający winogrona o ciemnym zabarwieniu skórki zawdzięczają m.in. związkowi fenolowemu, a w szczególności: antocyjanom i flawanolom [18]. W innym przypadku wykazano, że dzięki wysokiej zawartości kwasu askorbinowego w soku z żurawiny jego spożycie zwiększa aktywność przeciwutleniającą osocza krwi [24].

Truskawki są jednymi z najpopularniejszych owoców jagodowych na świecie. Dostępność tych owoców przez cały rok, zarówno jako produktu świeżego, jak i mrożonego, sprawia, że stanowią istotne źródło witamin, minerałów i związków polifenolowych w diecie. Badania epidemiologiczne i kliniczne udowodniły pozytywne efekty

zdrowotne spożycia truskawek, wskazując szczególnie na właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne i przeciwnadciśnieniowe [15]. Również sok z tych owoców jest godnym zainteresowania źródłem związków prozdrowotnych. Wykazano na przykład, że bogaty w antocyjany sok z truskawek jest skuteczny w hamowaniu mutagenyzy [28], czyli procesu polegającego na powstawaniu mutacji DNA. Obok ważnego aspektu jakim jest atrakcyjność wizualna produktu, należy zauważyć, że mętny sok z truskawek charakteryzuje się wyższą zawartością związków fenolowych [9]. Wykazano również, że obecność zmętnienia może mieć pozytywny wpływ na stabilność antocyjanów zawartych w soku truskawkowym [21], w związku z czym stabilizacja zmętnienia ma również istotny wpływ na jakość przechowalniczą soku.

Homogenizacja w przemyśle sokowniczym przeprowadzana jest w celu zmniejszenia średniej wielkości cząstek, co prowadzi do zwiększenia stabilności nierozpuszczalnych składników soku. Wykorzystując różne metody homogenizacji, z powodzeniem można uzyskać sok mętny nieulegający sedymentacji. Technologia homogenizacji wysokociśnieniowej polega na pompowaniu płynu (np. soku owocowego) przez wąską szczelinę (zawór homogenizacyjny) pod wysokim ciśnieniem. Nagłe obniżenie ciśnienia po przekroczeniu szczeliny powoduje wzrost prędkości płynu i w konsekwencji dochodzi do zjawiska kawitacji, a cząstki narażone są na wysokie naprężenia mechaniczne, w wyniku których dochodzi do ich destrukcji. Zdolność tej metody homogenizacji do inaktywacji mikroorganizmów, poprawy właściwości reologicznych oraz do ograniczenia degradacji związków wrażliwych na temperaturę w żywności jest dobrze poznana i opisana w literaturze [17].

Metoda ta znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle, szczególnie w sektorze napojów i soków oraz stosowana w celu homogenizacji i poprawienia właściwości reologicznych. Konieczność stosowania układów aseptycznych jest głównym czynnikiem ograniczającym implementację jako alternatywnej metody utrwalania produktów spożywczych [23]. W przypadku ultradźwięków istnieje wiele potencjalnych zastosowań, m.in.: usprawnianie zamrażania i filtracji, przyspieszanie suszenia, wytrawiania, odgazowywanie, emulgowanie [5, 30]. Główną zaletą stosowania technologii opartej na ultradźwiękach jest skrócenie czasu trwania procesu oraz poprawa wydajności i higieny procesu [12]. Metoda ta znajduje również zastosowanie jako narzędzie do inaktywacji mikroorganizmów i enzymów [5, 7].

Jednakże stabilność zmętnienia soku jest zjawiskiem złożonym, w którym uczestniczy wiele mechanizmów i reakcji pomiędzy pektynami, białkami oraz związkami polifenolowymi [4]. Stosowanie homogenizacji nie zawsze przynosi spodziewane rezultaty, a aktualna wiedza nie pozwala wyjaśnić wszystkich przyczyn niestabilności soków. W związku z tym poszukuje się rozwiązań technologicznych poprawiających stabilność soków.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu rodzaju homogenizacji na rozkład wielkości cząstek miąższu, zmętnienie i zawartość związków bioaktywnych w sokach z truskawek. W pracy porównano wybrane parametry jakościowe soków homogenizowanych ultradźwiękowo bądź wysokociśnieniowo oraz soku niehomogenizowanego.

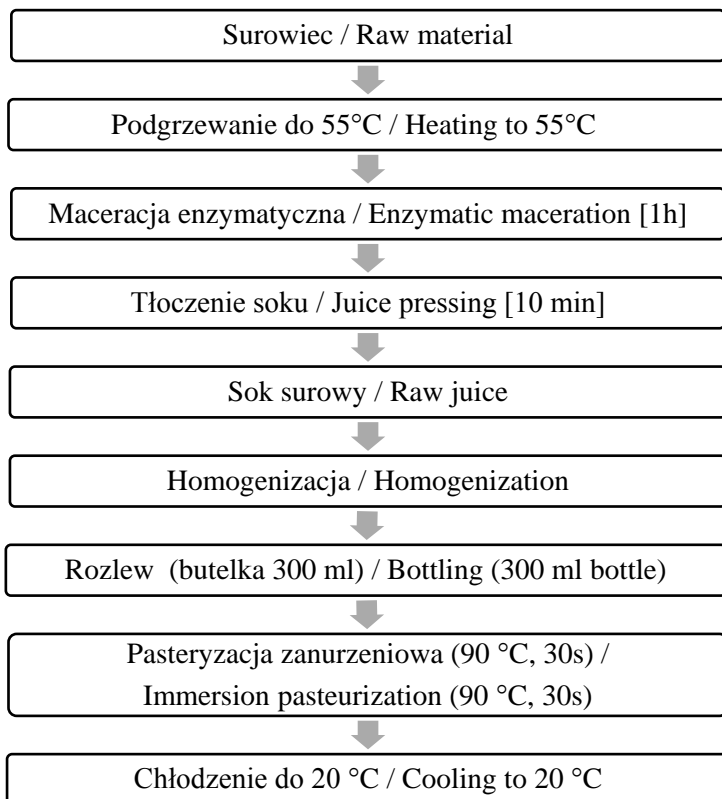
Przeprowadzone badania pozwalają poszerzyć wiedzę w zakresie możliwości produkcji soków mętnych z owoców truskawki. Z tej pogłębionej wiedzy skorzystać mogą zakłady przetwórstwa owoców, ponieważ problemy ze stabilnością zmętnienia soków są nadal kwestią nierozwiązaną. Homogenizacja ultradźwiękowa jako zabieg poprawiający stabilność zmętnienia soków jest alternatywą dla innych jej rodzajów m.in. dla homogenizacji wysokociśnieniowej, od której jest zdecydowanie łatwiejsza do implementacji i tańsza w eksploatacji.

Materiały i metody badań

Metoda uzyskania soku i procedura homogenizacji

Do badań wykorzystano owoce truskawek odm. 'Grandarosa' zakupione bezpośrednio u producenta, z plantacji komercyjnej zlokalizowanej w centralnej Polsce. W ciągu 2 godzin od zbioru owoce przewieziono do laboratorium, gdzie przeprowadzono mycie i usuwanie szypulek. Następnie owoce rozłożono w skrzynkach i zamrożono w komorze chłodniczej o temperaturze $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po upływie 24 godzin owoce przepakowano do szczelnych worków foliowych i przechowywano w stanie zamrożenia do dnia realizacji badań. Sok uzyskano w skali półtechnicznej metodą zaprezentowaną na schemacie (Ryc.1). Owoce po rozmrożeniu w kotle wyposażonym w płaszcz wodny, rozdrobniono na młynie Fryma (BASIS 91/55, Fryma-Maschinen AG, Rheinfelden, Niemcy), a następnie podgrzano do temperatury maceracji. Macerację rozdrobnionych owoców prowadzono w temp $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez okres 1 godziny, wykorzystując preparat enzymatyczny Pectinex® Ultra Passover (Novozymes, Szwajcaria), stosując dawkę 50 g/t. Sok uzyskano wykorzystując prasę przekładkową (Vorán Maschinen GmbH, Austria), stosując siłę nacisku 235 kN przez okres 10 minut. Wytłoczony sok następnie poddano dwóm rodzajom homogenizacji i rozlano do butelek o pojemności 250 cm^3 . W próbie kontrolnej sok rozlano do butelek bezpośrednio po tłoczeniu. Produkt pasteryzowano zanurzeniowo, stosując 30-sekundowy okres przetrzymywania w temp. $90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Następnie butelki schładzano do temperatury pokojowej. Homogenizację wysokociśnieniową przeprowadzono przy pomocy homogenizatora Atomo 3.0 (Bertoli, Włochy), stosując ciśnienie 200 barów (HPH200) oraz 600 barów (HPH600). Homogenizację przy ciśnieniu 600 barów wykonano dwustopniowo, przy czym pierwszy zawór homogenizacyjny ustawiony został na 200 barów. Homogenizację ultradźwiękową przeprowadzono sonikatorem VCX 750 (Sonics & Materials, USA) o mocy znamionowej 750 W, generującym ultradźwięki o częstotliwość 20 kHz. Czas

zabiegu wynosił 2 minuty (UH2) lub 8 minut (UH8). Sok niehomogenizowany zastosowano jako próbę kontrolną (KONTROLA). Wykonano 2 powtórzenia technologiczne dla każdej kombinacji soku truskawkowego.



Rycina 1. Schemat technologiczny produkcji soku truskawkowego
Figure 1. Process diagram of strawberry juice production

Analiza rozkładu wielkości cząstek

W próbach analizowano rozkład wielkości cząstek metodą dyfrakcji laserowej (Bettersizer S3, Chiny). Czas pomiaru wynosił 30 s, wielkość cząstek została obliczona na podstawie teorii Mie. Urządzenie jest wyposażone w mieszadło zapobiegające sedymentacji cząstek poprzez cyrkulację próbki w układzie pomiarowym. Wynik analizy zaprezentowano jako rozkład procentowy przedstawiający zawartość poszczególnych frakcji cząstek, czyli ich udział objętościowy w całej próbce soku.

Analiza zmętnienia soku

Mętność (T_0) soków mierzono przy użyciu turbidymetru (Hach Company, Box 389, USA). Wyniki mętności podano w NTU (nefelometrycznych jednostkach mętności). Stabilność zmętnienia została określona po odwirowaniu przy użyciu wirówki laboratoryjnej (obroty $4200 \times g$ przez 15 min.) i obliczeniu procentu stabilności zmętnienia zgodnie z następującym wzorem: $T\% = T_s/T_0 \times 100$, gdzie: T_s – mętność soku odwirowanego, T_0 – początkowa mętność soku.

Analiza lepkości soku

Lepkość określono za pomocą wiskozymetru Brookfield LVDVII (Brookfield Eng., Middleboro, USA) przy obrotach wrzeciona 60 obr/min. Lepkość soku wyrażono w $\text{mPa} \cdot \text{s}$.

Analiza zawartość kwasu L-askorbinowego

Zawartość kwasu L-askorbinowego oznaczono metodą HPLC przy użyciu systemu Agilent Technologies HPLC (seria 1200), wyposażonego w detektor diodowy (DAD). Separację zastosowano przy użyciu kolumny Supelcosil LC-18 ($250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$; $5 \mu\text{m}$) z kolumną wstępną i roztworem buforowym diwodorofosforanu potasu ($1\% \text{ KH}_2\text{PO}_4$; 2,5 pH) w fazie ruchomej. Kolumna była utrzymywana w temperaturze $30 \text{ }^\circ\text{C}$, a szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła $0,8 \text{ cm}^3/\text{min}$. Oznaczanie kwasu askorbinowego przeprowadzono przy długości fali 244 nm. Próbkę przed nastrzykiem były rozcieńczane w 6-procentowym HPO_3 . Wyniki wyrażono w $\text{mg}/100 \text{ cm}^3$ soku.

Analiza zawartości związków fenolowych

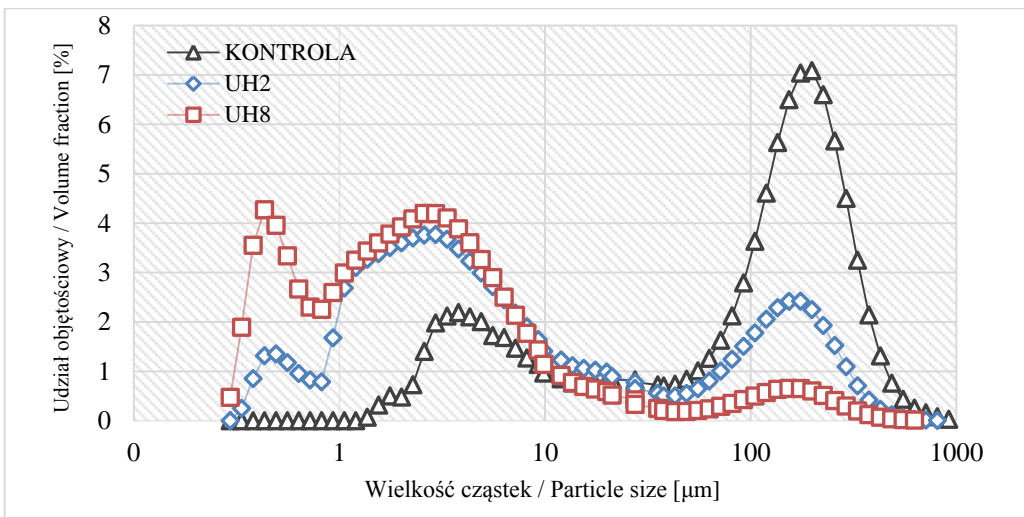
Analizę HPLC związków fenolowych przeprowadzono zgodnie z modyfikowaną metodą opisaną przez Nielsen i innych [19], przy użyciu Agilent HPLC Model HP 1200 wyposażonego w detektor diodowy (DAD). Separację przeprowadzono na kolumnie Phenomenex® Fusion RP ($250 \times 4,6 \text{ mm}$; wielkość cząstek $4 \mu\text{m}$) przy przepływie $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, w temperaturze $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Polifenole w eluacie były oznaczane przy długości fali 280 nm (flawan-3-ole), 320 nm (kwasy fenolowe), 360 nm (flawonole) i 520 nm (antocyjany).

Analiza statystyczna wyników

Jednoczynnikową analizę wariancji przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA 13 (Dell Inc., Tulsa, USA). Do porównania parametrów jakościowych soków wykorzystano test HSD Tukeya. Porównanie średnich przeprowadzono na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Rozkład wielkości cząstek w sokach homogenizowanych ultradźwiękowo zaprezentowano na Ryc. 2, a homogenizowanych wysokociśnieniowo – na Ryc. 3. Niezależnie od stosowanej metody homogenizacji średnia wielkość cząstek zawieszonych w soku uległa znacznemu zmniejszeniu. W przypadku soku niehomogenizowanego 27,7 % wykrytych cząstek posiadało rozmiar w zakresie poniżej 25 μm , podczas gdy dla soków homogenizowanych wysokociśnieniowo udział cząstek miększu o wielkości poniżej 25 μm wynosił 88,5 %, a dla soków homogenizowanych ultradźwiękowo – 74,7 %. Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane przez innych autorów, stwierdzające, że mętny sok to zawiesina cząstek o rozmiarach od 0,25 do 5 μm w przypadku soku jabłkowego [14], a 0,5 ÷ 2 μm w soku pomarańczowym⁴, przeanalizowano jaki procent cząstek w badanych sokach mieściło się w zakresie 0,25 ÷ 5 μm . Dla soku niehomogenizowanego jedynie 13,9 % cząstek mieściła się w tym zakresie, podczas gdy w soku UH2 – 50,3 %, UH8 – 53,4 %, HPH200 – 66,7 % i HPH600 – 84,2 %. Zaobserwowano również różnice w rozkładzie cząstek w zależności od czasu trwania homogenizacji ultradźwiękowej oraz wykorzystanego ciśnienia. Sok UH8 posiadał dużą frakcję cząstek o wielkości w zakresie 0,2 ÷ 1 μm wynoszącą 30,3 % wszystkich wykrytych cząstek, podczas gdy sok UH2

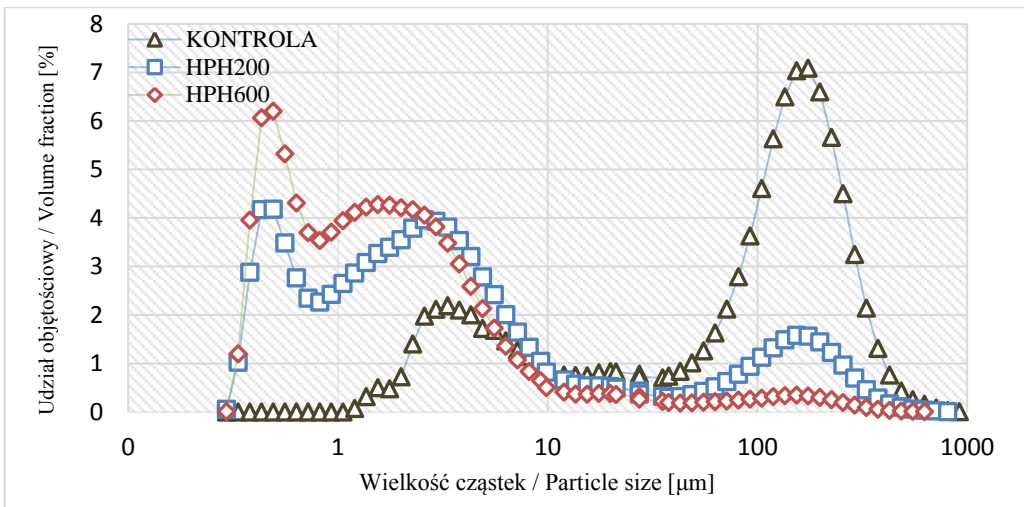


Rycina 2. Rozkład wielkości cząstek w soku z truskawek homogenizowanym metodą ultradźwiękową (KONTROLA- sok niehomogenizowany, UH2 – sok homogenizowany 2 minuty; UH8 - sok homogenizowany 8 minut)

Figure 2. Particle size distribution in ultrasonically homogenized strawberry juice (KONTROLA - un-homogenized juice, UH2 - homogenized juice 2 minutes; UH8 - homogenized juice 8 minutes)

posiadał 11,9 % cząstek w tym zakresie. Podobną różnicę stwierdzono w przypadku soków HPH200 i HPH600, dla których zawartość cząstek w tym zakresie wynosiła odpowiednio: 28,3 % oraz 41,9 %.

Obydwie metody homogenizacji miały zatem pozytywny wpływ na rozkład wielkości cząstek w soku przez zmniejszenie ich wielkość. Zastosowanie ultradźwięków przez 2 minuty lub homogenizacji przy ciśnieniu 200 barów wystarczyło aby zapewnić ograniczenie rozmiarów cząstek w soku. Podobny efekt uzyskano w przypadku soków z owoców cytrusowych homogenizowanych w ciśnieniu od 50 do 300 barów. Na podstawie tych badań stwierdzono, że wykorzystanie ciśnienia 200 barów umożliwia redukcje wielkości cząstek nie powodując negatywnych zmian m.in. zmiany barwy produktu [3]. Natomiast homogenizacja ultradźwiękowa z powodzeniem stosowana jest w przypadku tworzenia emulsji [8] oraz jako zabieg zmieniający właściwości reologiczne wielu produktów spożywczych [1]. Aktualnie zastosowanie homogenizacji ultradźwiękowej w przemyśle spożywczym ma szczególne zastosowanie w przypadku mleka [30] oraz napojów roślinnych zastępujących mleko krowie [6], ograniczając zjawisko sedymentacji w tych produktach.



Rycina 3. Rozkład wielkości cząstek w soku z truskawek homogenizowanym metodą wysokociśnieniową (Kontrola – sok niehomogenizowany, HPH200 – sok homogenizowany wysokociśnieniowo z zastosowaniem 200 barów, HPH600 – sok homogenizowany wysokociśnieniowo z zastosowaniem 600 barów).

Figure 3. Particle size distribution in strawberry juice homogenized by high-pressure method (Control - non-homogenized juice, HPH200 - 200 bar high-pressure homogenized juice, HPH600 - 600 bar high-pressure homogenized juice).

Ryc. 4 przedstawia wygląd soków truskawkowych po 48 godzinach od pasteryzacji soku. Zdjęcie obrazuje zróżnicowanie stabilności zmętnienia soków homogenizowanych ultradźwiękami oraz wysokimi ciśnieniami w porównaniu z sokiem niehomogenizowanym. Sok, którego nie homogenizowano (kontrola) uległ wyraźnej sedymentacji, w wyniku której uzyskano sok klarowny w górnej części butelki i osad widoczny na dnie butelki. Pozostałe obiekty charakteryzują się różnym stopniem zmętnienia ustabilizowanym poprzez zastosowanie homogenizacji, dostrzegalne są jednak różnice pomiędzy obiektami. Podobne wyniki uzyskano, traktując ultradźwiękami soki pomarańczowe, w których przypadku nie zaobserwowano widocznej wizualnie separacji faz nawet po 4 dniach przechowywania soku [25].

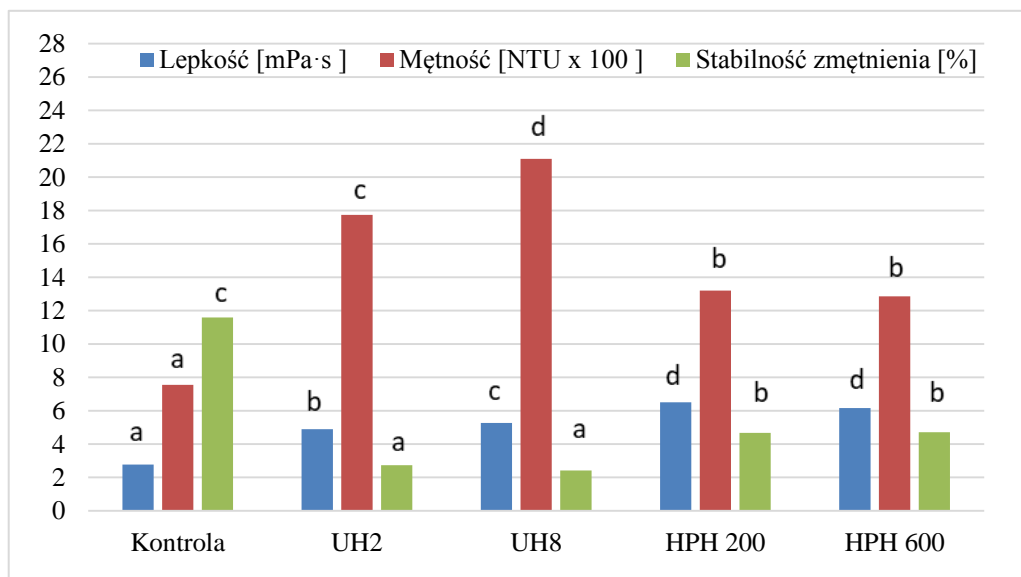


Rycina 4. Porównanie stopnia sedymentacji soków po 48 godzinach przechowywania w zależności od rodzaju homogenizacji (od lewej: KONTROLA, UH2, UH8, HPH200, HPH600)

Figure 4. The comparison of the sedimentation degree of juices after 48 hours of storage, depending on the homogenization treatment (from the left: CONTROL, UH2, UH8, HPH200, HPH600)

Pomiar mętności soku wykazał, że soki homogenizowane miały zdecydowanie wyższy poziom zmętnienia w porównaniu z sokiem niehomogenizowanym, którego zmętnienie wynosiło 755 NTU (Ryc. 5). Najwyższym poziomem zmętnienia charakteryzowały się soki homogenizowane ultradźwiękami, a czas procesu miał pozytywny wpływ na ten parametr. Zmętnienie tych soków było wyższe o 135 % dla UH2 i 179 % dla UH8 od zmętnienia soku niehomogenizowanego (KONTROLA). Na tej podstawie można stwierdzić, że wydłużony czas homogenizacji miał pozytywny wpływ na poziom zmętnienia. Natomiast soki homogenizowane wysokociśnieniowo nieznacznie różniły się od siebie pod tym względem. Poziom zmętnienia dla soku HPH200 wzrósł o 75 %, a dla soku HPH600 – o 70 % w porównaniu z sokiem niehomogenizowanym.

Jednakże obserwowane zmętnienie soków charakteryzowało się niską stabilnością. W porównaniu z niehomogenizowanym sokiem, którego zmętnienie miało stabilność na poziomie 11,6 %, soki homogenizowane miały niższą stabilność zmętnienia. Soki homogenizowane ultradźwiękowo miały średnio o 9,0 %, a soki homogenizowane wysokociśnieniowo – o 5,9 % niższą stabilność zmętnienia.



Rysina 5. Mętność, stabilność zmętnienia oraz lepkość soków w zależności od rodzaju homogenizacji (słupki oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$; $n = 4$).

Figure 5. Turbidity, stability of turbidity and juice viscosity depending on the type of homogenization (bars labelled with the same letter correspond to results that show no statistically significant differences at $p < 0.05$; $n = 4$).

Pod wpływem homogenizacji wzrosła lepkość wszystkich badanych soków, która osiągnęła najwyższą wartość 6,5 mPa·s dla soku HPH200 (o 135 % więcej od soku niehomogenizowanego). Sok HPH600 charakteryzował się lepkością równą 6,2 mPa·s (o 122 % więcej od soku niehomogenizowanego). Soki homogenizowane ultradźwiękowo posiadały niższą lepkość wynoszącą 4,9 mPa·s dla soku UH2, a dla soku UH8 - 5,3 mPa·s. Obserwowany wzrost lepkości soków homogenizowanych nie był zatem skorelowany z poziomem zmętnienia. Przeciwnie obserwacje zanotowano w przypadku traktowania ultradźwiękami soków pomarańczowych [16], gdzie im dłużej trwało oddziaływanie, tym lepkość soku była niższa, jednocześnie obserwowano wzrost zmętnienia i jego stabilności. Zabiegi homogenizacji nie zawsze gwarantują przewidywalny efekt, ponieważ zjawisko stabilności zmętnienia nie zależy jedynie od wielkości cząstek. Jednym z kluczowych czynników wpływających na stabilność zmętnienia jest

również aktywność metyloesteraz pektynowych [32] (niebadanych w tej pracy), których podatność na traktowanie ultradźwiękami jest tematem wielu badań. Dodatkowo zauważa się wpływ pH oraz właściwej obróbki surowca na stabilność zmętnienia soków. W badaniach nad stabilnością soku z pomarańczy, w których skupiono się na interakcji składników i cząstek stanowiących zmętnienie soku, wykazano, że agregacja cząstek prowadząca do utraty stabilności zawiesiny zależy m.in. od zmian pH soku, ale jak podkreślają autorzy, mechanizm stabilności zmętnienia wciąż wymaga dalszych badań [11]. W przypadku soku z marchwi, zakwaszenie soku prowadziło do aglomeracji cząstek, a tym samym obniżenia stabilności zawiesiny i utraty zmętnienia [26]. W badaniu tym wykazano również, że zakwaszenie pulpy przed tłoczeniem poprawia stabilność zmętnienia uzyskiwanego soku, co świadczy o tym, że właściwy schemat technologiczny na początkowych etapach produkcji może mieć decydujący wpływ na jakość uzyskanego soku.

Zawartość kwasu L-askorbinowego i związków fenolowych w badanych próbkach soku została przedstawiona w Tab. 1. Zawartość kwasu L-askorbinowego w soku truskawkowym, niezależnie od sposobu traktowania, wynosiła średnio 16,3 mg/100 ml

Tabela 1. Zawartość kwasu L-askorbinowego oraz związków polifenolowych w soku truskawkowym homogenizowanym różnymi metodami

Table 1. The content of L-ascorbic acid and polyphenolic compounds in strawberry juice homogenized by different methods

Badany parametr [mg/100 cm ³]	KONTROLA	HPH200	HPH600	UH2	UH8
Kwas L-askorbinowy	15,76 ^a ± 0,84	15,74 ^a ± 1,04	16,31 ^a ± 0,74	18,27 ^a ± 0,04	15,24 ^a ± 1,69
Katechina	3,05 ^a ± 0,04	3,03 ^a ± 0,01	2,96 ^a ± 0,08	3,07 ^a ± 0,11	3,29 ^a ± 0,26
Pochodna kwasu chlorogenowego	1,65 ^a ± 0,01	1,62 ^a ± 0,01	1,62 ^a ± 0,01	1,64 ^a ± 0	1,63 ^a ± 0,01
Pochodne kwercetyny	1,71 ^a ± 0,01	1,66 ^a ± 0,06	1,63 ^a ± 0,03	1,71 ^a ± 0,04	1,71 ^a ± 0,01
Rutozyd-3- kwercetyny	0,15 ^a ± 0,02	0,16 ^a ± 0,01	0,14 ^a ± 0,01	0,16 ^a ± 0,02	0,17 ^a ± 0,01
Glukozyd-3-cyjanidyny	0,54 ^a ± 0,05	0,54 ^a ± 0,01	0,55 ^a ± 0,01	0,56 ^a ± 0,01	0,51 ^a ± 0,03
Glukozyd – 3 - pelargonidyny	5,34 ^a ± 0,07	5,47 ^a ± 0,02	5,52 ^a ± 0,03	5,78 ^a ± 0,1	5,33 ^a ± 0,23
Rutozyd – 3 - pelargonidyny	0,30 ^a ± 0,02	0,30 ^a ± 0,01	NW	0,31 ^a ± 0,1	0,29 ^a ± 0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

Średnie ± odchylenie standardowe; wartości liczbowe w wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy $p < 0,05$ (n=4). Objasnienie: NW – nie wykryto

Explanatory notes: Means ± standard deviation; numerical values in the line labelled with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ (n=4). Explanation: NW – not detected

soku i była niższa niż wskazują dane literaturowe [3, 4]. Obie badane metody homogenizacji nie wpłynęły istotnie na jej zawartość. Podobne rezultaty uzyskano, traktując ultradźwiękami próbki soku pomarańczowego, gdzie nie stwierdzono różnic w zawartości kwasu L-askorbinowego w porównaniu z sokiem nietraktowanym [16]. Wykryte w próbkach soku związki fenolowe należą do trzech grup flawonoidów: flawanole (katechina), flawonole (pochodne kwercetyny), antocyjany (glukozyd-3- cyjanidyny, glukozyd-3-pelargonidyny, rutozyd-3-pelargonidyny) oraz kwasów fenolowych (pochodna kwasu chlorogenowego), co jest zgodnie z danymi literaturowymi [34]. Zawartość glukozydu-3-pelargonidyny w badanych sokach była najwyższa spośród wykrytych antocyjanów (średnio 5,49 mg/100 ml). Związek ten w głównej mierze odpowiada za barwę truskawek [13]. Nie zaobserwowano żadnego wpływu zabiegów homogenizacji na zawartość związków fenolowych w badanych próbkach soku w porównaniu z sokiem niehomogenizowanym.

Nieznaczny wzrost temperatury występujący w obydwu badanych metodach homogenizacji nie stanowił czynnika powodującego degradację związków fenolowych. Oddziaływanie wysokim ciśnieniem oraz temperaturą do 100 °C na sok truskawkowy, jak wykazali Rodri i wsp. [27], nie powoduje znacznej degradacji antocyjanów.

Wnioski

1. Homogenizacja wysokociśnieniowa i ultradźwiękowa charakteryzują się wysoką skutecznością w zmniejszaniu wielkości cząstek w soku z truskawek.
2. Zmniejszenie wielkości cząstek pod wpływem obydwu homogenizacji może być postrzegane jako narzędzie do poprawy stabilności zmętnienia soków naturalnie mętnych z truskawek.
3. Homogenizacja wysokociśnieniowa i ultradźwiękowa nie wpływa w istotny statystycznie sposób na zawartość antocyjanów oraz kwasu L-askorbinowego w soku z truskawek.

Badania zrealizowane w ramach projektu badawczego „Optymalizacja procesu homogenizacji wysokociśnieniowej w produkcji innowacyjnych przetworów z owoców i warzyw” (ZPiPOiW/2/2020–6.2.20) finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki oraz projektu polsko-norweskiego NOR/POLNOR/ QualityBerry 0014/2019-00/2019 finansowanego przez Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt zrealizowany w ramach Norweskiego Mechanizmu Finansowego na lata 2014-2021. „Działamy razem na rzecz zieleni, konkurencyjna i sprzyjająca integracji społecznej Europa”.

Literatura

- [1] Aslam R., Alam M.S., Kaur J., Panayampadan A.S., Iqbal Dar O., Kothakota A, Pandiselvam R.: Understanding the effects of ultrasound processing on texture and rheological properties of food: *J. Texture Stud.*, 2022, 53, 6, 775-799.
- [2] Bazzano L.A., Li T.Y., Joshipura K.J., Hu F.B.: Intake of Fruit, Vegetables, and Fruit Juices and Risk of Diabetes in Women. *Diabetes Care*, 2008, 31, 7, 1311-1317.
- [3] Betoret E., Betoret N., Carbonell J. V., Fito P.: Effects of pressure homogenization on particle size and the functional properties of citrus juices. *J. Food Eng.*, 2009, 92, 1, 18-23.
- [4] Beveridge T.: Opalescent and Cloudy Fruit Juices: Formation and Particle Stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2002, 42, 4, 317-337.
- [5] Bevilacqua A., Campaniello D., Speranza B., Altieri C., Sinigaglia M., Corbo M.R.: Two Nonthermal Technologies for Food Safety and Quality—Ultrasound and High Pressure Homogenization: Effects on Microorganisms, Advances, and Possibilities: A Review. *J. Food Prot.*, 2019, 82, 12, 2049-2064.
- [6] Bosiljkov T., Brnčić M., Tripalo B., Karlović S., Ukrainczyk M., Ježek D., Rimac Brnčić S.: Impact of ultrasound-enhanced homogenization on physical properties of soybean milk. *Chem. Engin. Trans.*, 2009, 17, 1029-1034.
- [7] Butz P., Tauscher B.: Emerging technologies: chemical aspects. *Food Res. Int.*, 2002, 35, 2-3, 279-284.
- [8] Canselier J. P., Delmas H., Wilhelm A.M., Abismaïl B.: Ultrasound Emulsification – An Overview. *J. Dispers. Sci. Technol.*, 2002, 23, 1-3, 333-349.
- [9] Cao X., Bi X., Huang W., Wu J., Hu X., Liao X.: Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2012, 16, 181-190.
- [10] Duthie S.J.: Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: Evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, 51, 6, 665-674.
- [11] Ellerbee L., Wicker L.: Calcium and pH influence on orange juice cloud stability. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, 91, 1, 171-177.
- [12] Fernandes F.A.N., Rodrigues S.: Application of Ultrasound and Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration in Drying of Fruits. *Dry. Technol.*, 2008, 26, 12, 1509-1516.
- [13] Garzón G.A., Wrolstad R.E.: Comparison of the Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins in Strawberry Juice and Concentrate. *J. Food Sci.*, 2002, 67, 4, 1288-1299.
- [14] Genovese D.B., Lozano J.E.: Effect of Cloud Particle Characteristics on the Viscosity of Cloudy Apple Juice. *J. Food Sci.*, 2000, 65, 4, 641-645. Giampieri F., Forbes-Hernandez T.Y., Gasparrini M., Alvarez-Suarez J.M., Afrin S., Bompadre S., Quiles J.L., Mezzetti B., Battino M.: Strawberry as a health promoter: an evidence based review. *Food Funct.*, 2015, 6, 5, 1386-1398.
- [15] Gomes A., Costa A.L.R., Rodrigues P.D., Castro R.J.S.D., Silva E.K.: Sonoprocessing of freshly squeezed orange juice: Ascorbic acid content, pectin methyltransferase activity, rheological properties and cloud stability”, *Food Control*, 2022, 131, #108391.
- [16] Levy R., Okun Z., Shpigelman A.: High-Pressure Homogenization: Principles and Applications Beyond Microbial Inactivation. *Food Eng. Rev.*, 2021, 13, 3, 490-508.
- [17] Lovino R., Baiano A., Pati S., Faccia M., Gambacorta G.: Phenolic composition of red grapes grown in Southern Italy. *Ital. J. Food Sci.* 2006, 18(2), 177-186.
- [18] Nielsen I.L.F., Haren G.R., Magnussen E.L., Dragsted L.O., Rasmussen S.E.: Quantification of Anthocyanins in Commercial Black Currant Juices by Simple High-Performance Liquid Chromatog-

- raphy. Investigation of Their pH Stability and Antioxidative Potency. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 20, 5861-5866.
- [19] Oguntibeju O.O., Truter E.J., Esterhuysen A.J.: The Role of Fruit and Vegetable Consumption in Human Health and Disease Prevention. *Diabetes Mellitus - Insights and Perspectives*, InTech, 2013.
- [20] Oszmiański J., Wojdyło A.: Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, 228, 4, 623-631.
- [21] Park Y. K., Park E., Kim J.-S., Kang M.-H. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, 2003, 529, 1-2, 77-86.
- [22] Patrignani F., Lanciotti R.: Applications of High and Ultra High Pressure Homogenization for Food Safety. *Front. Microbiol.*, 2016, 7, #1132.
- [23] Pedersen C, Kyle J, Jenkinson Am, Gardner P, McPhail D, Duthie G. Effects of blueberry and cranberry juice consumption on the plasma antioxidant capacity of healthy female volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, 54(5), 405-408.
- [24] Priyadarshini A., Rajauria G., O'Donnell C.P., Tiwari B.K.: Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2019, 59, 19, 3082-3101.
- [25] Reiter M., Stuparić M., Neidhart S., Carle R.: The role of process technology in carrot juice cloud stability. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2003, 36, 2, 165-172.
- [26] Rodrigo D., Van Loey A., Hendrickx M.: Combined thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. *J. Food Eng.*, 2007, 79, 2, 553-560.
- [27] Smith S.H., Tate P.L., Huang G., Magee J.B., Meepagala K.M., Wedge D.E., Larcom L.L.: Antimutagenic Activity of Berry Extracts. *J. Med. Food*, 2004, 7, 4, 450-455.
- [28] Soler C., Soriano J. M., Mañes J.: Apple-Products Phytochemicals and Processing: A Review. *Nat. Prod. Commun.*, 2009, 4, 5, 69-670.
- [29] Soria A. C. i Villamiel M.: Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2010, 21, 7, 323-331.
- [30] Stowe C.B.: The effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and cardiovascular health. *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 2011, 17, 2, 113-115.
- [31] Tiwari B.K., Muthukumarappan K., O'Donnell C.P., Cullen P.J.: Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, 10, 2, 166-171.
- [32] Vallée Marcotte B., Verheyde M., Pomerleau S., Doyen A., Couillard C.: Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. *Nutrients*, 2022, 14, 4, #821.
- [33] Wang S.Y., Zheng W., Galletta G.J.: Cultural System Affects Fruit Quality and Antioxidant Capacity in Strawberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 22, 6534-6542.

THE EFFECT OF HOMOGENIZATION TYPE ON RHEOLOGICAL PROPERTIES AND CONTENT OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN CLOUDY STRAWBERRY JUICE

S u m m a r y

Background. Turbidity is an important quality parameter of fruit juices. Sedimentation of pulp particles suspended in juice may result in a negative assessment of the product's quality by consumers. Therefore, turbidity stabilization is a challenge for juice producers. In this study, two types of homogenization were used to constrain juice sedimentation. Cloudy juice made of the "Grandarosa" cv. strawberries was

used for the research. High-pressure homogenization was carried out with an Atomo 3.0 homogenizer at a pressure of 200 and 600 bar. Ultrasonic homogenization was carried out with a Sonics VCX 750 sonicator using 750W power for 2 and 8 minutes. The juice samples were analyzed for particle size distribution, viscosity, turbidity, total anthocyanin content, phenolic compounds and ascorbic acid content.

Results and conclusions. In the case of ultrasonic homogenization, approximately 70 % of the particles present in the juice had a diameter below 25 μm , while in non-homogenized juice, the fraction of particles with a diameter below 25 μm was only 25 %. High-pressure homogenization, regardless of the pressure used, had a higher efficiency in the fragmentation of turbidity particles than ultrasonic homogenization (approximately 90% of the particles below 25 μm in size). Homogenization at a pressure of 200 bar resulted in the highest increase in viscosity to 6.5 mPa·s, by 135 % more than the non-homogenized juice. The juice homogenized ultrasonically for 8 minutes had the highest turbidity level, with a turbidity of $2^{11}0$ NTU. The average content of total anthocyanins (6 mg/100 cm^3) and L-ascorbic acid (16.8 mg/100 cm^3) in the strawberry juice did not differ statistically significantly, regardless of the type of homogenization. High-pressure homogenization and ultrasonic homogenization are highly effective in reducing the size of particles in strawberry juice, however, none of them significantly degrades the anthocyanins and ascorbic acid content.

Key words: high-pressure homogenization, ultrasonic homogenization, particle size, turbidity, fruit juices



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 2024 r.

Polskie akty prawne

1. Obwieszczenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 26 czerwca 2024 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych. (Dz. U. 2024 r, poz. 998).

Obwieszczenie zawiera jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju z dn. 30 września 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych.

Rozporządzenie określa szczegółowe wymagania w zakresie jakości handlowej następujących wyrobów:

- soki owocowe,
- soki owocowe odtworzone z zagęszczonego soku owocowego,
- soki owocowe zagęszczone (koncentraty owocowe, koncentraty soków owocowych),
- soki owocowe w proszku,
- nektary owocowe,
- soki owocowe wyprodukowane z użyciem ekstrakcji wodnej.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 20 sierpnia 2024 r. zmieniające rozporządzenia w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych. (Dz. U. 2024 r., poz. 1274).

Wprowadzone zmiany w Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 lipca 2022 r. zawarte są w załączniku nr 2 do niniejszego rozporządzenia. Załącznik zawiera wykaz pięciu krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych dla badań produktów pochodzenia zwierzęcego lub pasz.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 9 sierpnia 2024 r. w sprawie wzoru legitymacji służbowej pracownika Inspekcji Weterynaryjnej. (Dz. U. 2024 r., poz. 1285).

Rozporządzenie określa wzór legitymacji służbowej pracownika Inspekcji Weterynaryjnej i jej zabezpieczenia przed przerobieniem lub podrobieniem.

4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 30 sierpnia 2024 r. w sprawie rozpuszczalników ekstrakcyjnych, które mogą być stosowane w produkcji żywności lub składników żywności. (Dz. U. 2024 r., poz. 1346).

Rozporządzenie określa:

- maksymalne dopuszczalne poziomy zawartości pierwiastków szkodliwych dla zdrowia w rozpuszczalnikach ekstrakcyjnych,
- wykaz substancji i materiałów dopuszczonych do stosowania w produkcji żywności lub składnikach żywności,
- warunki stosowania rozpuszczalników ekstrakcyjnych,
- maksymalne dopuszczalne poziomy pozostałości rozpuszczalników ekstrakcyjnych żywności lub składnikach żywności,
- szczegółowe wymagania w zakresie oznakowania rozpuszczalników ekstrakcyjnych,

specyfikacje i kryteria czystości rozpuszczalników ekstrakcyjnych.

Unijne akty prawne

1. Decyzja wykonawcza 2024/1941 w sprawie wyznaczenia laboratorium referencyjnego Unii Europejskiej ds. środków ulepszających żywność zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i rady (UE) 2017/625(EOG)]. (DZ.U. UE L 2024 r., poz. 1941).

Podjęto decyzję, że laboratorium referencyjne ds. środków ulepszających żywność („EURL FIA”) powinno zostać laboratorium Siensano Rue Juliette Wytsmanstraat 14, 1050 Brussels w Belgii. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Tabele składu i wartości odżywczej żywności

Hanna Kunachowicz, Beata Przygoda, Irena Nadolna, Krystyna Iwanow

Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2024, ISBN 978-832-006-25-88, liczba stron: 1182

Tabele składu i wartości odżywczej żywności zawierają dane o wartości energetycznej i zawartości kilkudziesięciu składników odżywczych w produktach spożywczych oraz w gotowych potrawach. Pozwalają one ocenić sposób żywienia, czyli wartość odżywczą diety. Dzięki nim można również porównywać wartość energetyczną i odżywczą diety z zalecanym dziennym spożyciem zamieszczonym w normach żywienia.

Żywienie w czasie ciąży i karmienia piersią

Dorota Szostak-Węgierek (red.)

Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2024, ISBN 978-832-006-34-48, liczba stron: 226

W opracowaniu omówiono znaczenie prawidłowego żywienia w czasie ciąży i laktacji oraz zasad żywienia w tym okresie z uwzględnieniem odpowiedniej suplementacji. Książka obejmuje również zagadnienia dotyczące żywienia w ciąży powikłanej cukrzycą, niedokrwistością, ciążowym stanami nadciśnieniowymi, cholestazą, otyłością, chorobami przewodu pokarmowego, niewydolnością nerek lub chorobami nowotworowymi.

Biotechnologia żywności

Włodzimierz Bednarski, Arnold Reps (red.)

Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2024, ISBN 978-830-119-36-21, liczba stron: 498

Biotechnologia jest jedną z najintensywniej rozwijających się dyscyplin naukowych. W drugim wydaniu książki w syntetyczny i kompletny sposób przedstawiono główne kierunki badań oraz najważniejsze osiągnięcia współczesnej biotechnologii żywności.

Podręcznik ten jest znakomitym źródłem wiedzy dla studentów, nauczycieli akademickich i pracowników związanych z przemysłem spożywczym.

Advances in Biopolymers for Food Science and Technology

Postępy w biopolimerach dla nauki i technologii żywności

Kunal Pal, Preetam Sarkar, Miguel Ângelo Cerqueira (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-443-19005-6, liczba stron: 568

Opracowanie przedstawia najnowsze techniki przygotowywania biopolimerowych materiałów na potrzeby nowych zastosowań w żywności. Omówiono właściwości różnych biopolimerów pochodzenia polisacharydowego i białkowego, a w szczególności biopolimery pochodzenia morskiego. Szczegółowo przedstawiono zagadnienia dotyczące projektowania żywności z wykorzystaniem biopolimerów poprzez ich konkretne zastosowania, w tym jako składniki zastępujące tłuszcz, w emulsjach spożywczych oraz mikro- i nanokapsułkowanie, nanostruktury i nanofilmy, peptydy przeciwdrobnoustrojowe, powłoki i opakowania spożywcze, krioprotekcję i produkcję mięsa hodowlanego. Przedstawiono także wyzwania dotyczące zrównoważonego rozwoju opakowań spożywczych. Książka stanowi cenne źródło wiedzy dla badaczy i studentów z zakresu nauki o polimerach, nauki o żywności, chemii, opakowań, nanotechnologii i nauki o materiałach, a także dla specjalistów ds. badań i rozwoju zainteresowanych biopolimerami.

Biodegradable and Edible Food Packaging - Trends and Technologies

Biodegradowalne i jadalne opakowania żywności - trendy i technologie

Khalid Bashir, Kulsum Jan, Shumaila Jan, Ab Lateef Khan, David Julian McClements (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-323-95624-6, liczba stron: 541

Opracowanie przedstawia koncepcję, status i najnowsze osiągnięcia w zakresie biodegradowalnych i jadalnych materiałów opakowaniowych. Książka oferuje obszerne informacje dotyczące zasad pakowania żywności i zastosowań materiałów opakowaniowych w różnych obszarach przetwórstwa żywności, a także produktów nieżywnościowych. W opracowaniu zawarto również najnowsze informacje dotyczące wymagań dla opakowań wszystkich grup żywności, w tym wiedzę na temat biodegradowalnych i jadalnych materiałów opakowaniowych, które redukują zanieczyszczenie środowiska.

Opracowanie dostarcza również informacji na temat najnowszych trendów, takich jak wykorzystanie rolniczych i przemysłowych produktów ubocznych do otrzymywania materiałów opakowaniowych

Enzymatic Processes for Food Valorization

Procesy enzymatyczne do waloryzacji żywności

Mónica L. Chávez González, José Juan Buenrostro Figueroa, Deepak K. Verma, Cristóbal N. Aguilar (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-323-95996-4, liczba stron: 380

W książce przedstawiono najnowsze wyniki badań w dziedzinie katalizy enzymatycznej stosowanej na różnych etapach procesu produkcyjnego żywności. Poszczególne rozdziały opracowania omawiają postęp w przetwarzaniu żywności z wykorzystaniem enzymów, a także wykorzystanie technologii enzymatycznych w celu otrzymywania interesujących związków biologicznie aktywnych z produktów ubocznych oraz pokazują najnowsze trendy w biokatalizie i jej zastosowaniu w przemyśle spożywczym. Opracowanie przygotowane przez zespół międzynarodowych ekspertów, stanowi doskonały przewodnik dla specjalistów w dziedzinie technologii enzymów stosowanych w przemyśle spożywczym, a także dla naukowców zajmujących się wykorzystaniem enzymów do przetwarzania odpadów żywnościowych w celu odzyskiwania cennych substancji.

Insects as Food and Food Ingredients - Technological Improvements Sustainability and Safety Aspects

Owady jako żywność i składniki żywności - Ulepszenia technologiczne zrównoważonego rozwoju i aspekty bezpieczeństwa

Marco García-Vaquero, Carlos Álvarez García (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-323-95594-2, liczba stron: 337

W opracowaniu podjęto tematykę wykorzystania owadów jako żywności, zgodnie z podejściem „od pola do stołu” i obejmuje ono ogólne aspekty dotyczące hodowli, przetwórstwa i głównych zastosowań owadów i składników z nich pochodzących w sektorze spożywczym. Podzielona na trzy sekcje książka omawia hodowlę owadów, wyzwania związane z przetwarzaniem całych owadów lub ich frakcjonowaniem na składniki za pomocą konwencjonalnych i innowacyjnych technologii, a także właści-

wości biologiczne, zastosowanie, bezpieczeństwo, funkcjonalność i wartość odżywcza owadów i ich składników stosowanych w przemyśle spożywczym.

Nanotechnology and Nanomaterials in the Agri-Food Industries - Smart Nanoarchitectures, Technologies, Challenges, and Applications

Nanotechnologia i nanomateriały w przemyśle rolno-spożywczym - inteligentne nanoarchitektury, technologie, wyzwania i zastosowania

Pardeep Singh, Puja Khare, Disha Mishra, Muhammad Bilal, Mika Sillanpää (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-323-99682-2, liczba stron: 431

W opracowaniu przedstawiono najnowsze osiągnięcia w zakresie wykorzystania zaawansowanej nanotechnologii, nanoarchitektur i nanomateriałów w sektorach rolniczym i spożywczym. Książka omawia najnowsze trendy w kierunku zrównoważonej syntezy i zastosowań zielonych nanomateriałów oraz biodegradowalnych nanomateriałów i kompozytów. Kolejne rozdziały koncentrują się na kluczowych obszarach zastosowań inżynierskich nanomateriałów zarówno w rolnictwie, jak i przetwórstwie żywności, takich jak produkcja i ochrona upraw, wykrywanie zanieczyszczeń, inżynieria nanobioniczna i genetyczna w roślinach, aktywne pakowanie i konserwacja żywności, ulepszone receptury żywności i składniki odżywcze oraz nanosensory. Następnie omówiono kluczowe wyzwania związane ze stosowaniem nanostruktur i nanourządzeń w tych sektorach, w tym kwestie zdrowotne i środowiskowe oraz własności intelektualnej.

Natural Antioxidants to Enhance the Shelf-Life of Food

Naturalne przeciwutleniacze przedłużające trwałość żywności

Mirian Pateiro (red.)

Wydawnictwo: Elsevier Inc. 2024, ISBN 978-0-443-15386-0, liczba stron: 375

Opracowanie jest najnowszym źródłem obejmującym popularne tematy, takie jak analiza związków toksycznych i kontrola zatruc pokarmowych, oszustwa żywnościowe, identyfikowalność i autentyczność, rewaloryzacja przemysłu rolno-spożywczego oraz naturalne związki przeciwdrobnoustrojowe i ich zastosowanie w celu poprawy trwałości żywności, nanotechnologia w produkcji żywności oraz inteligentne opakowania i sensory do zastosowań spożywczych. Książka koncentruje się na ostatnich postępach i strategiach wykorzystania tych związków w przedłużeniu trwałości żywności. Po-

szczególne rozdziały opisują postępy w analizie aktywności przeciwutleniającej, metodach elektrochemicznych, stabilności oksydacyjnej żywności i naturalnych przeciwutleniaczach otrzymywanych na bazie produktów ubocznych przemysłu rolnospożywczego. Omówiono również naturalne przeciwutleniacze ze źródeł morskich i innowacje w zakresie powłok i filmów przeciwutleniających.

Food Process Engineering and Technology: Safety, Packaging, Nanotechnologies and Human Health

Inżynieria i technologia przetwarzania żywności: bezpieczeństwo, pakowanie, nanotechnologie i zdrowie człowieka

Junaid Ahmad Malik, Megh R. Goyal, Anu Kumari (red.)

Wydawnictwo: Springer Nature Singapore, 2024, ISBN 981-996-83-05, liczba stron: 512

Książka koncentruje się na nowych rozwiązaniach powiązanych z technologią i inżynierią przetwórstwa żywności. Skupia się również na bezpieczeństwie żywności, jakości i zarządzaniu, narzędziach bioinżynieryjnych do poprawy upraw w rolnictwie, ostatnich innowacjach w zakresie pakowania żywności, nanotechnologii w przetwórstwie żywności i korzyściach zdrowotnych. Opracowanie jest gotowym źródłem informacji dla badaczy żywności, studentów i ekspertów tej branży.

Understanding Wine Chemistry, 2nd Edition

Zrozumieć chemię wina. Wydanie 2

Andrew L. Waterhouse, Gavin L. Sacks, David W. Jeffery (red.)

Wydawnictwo: John Wiley & Sons, Ltd, 2024, ISBN 978-1-119-89409-4, liczba stron: 560

W opracowaniu scharakteryzowano związki występujące w winie, ich podstawowe właściwości chemiczne i ich wkład w stabilność i właściwości sensoryczne wina. Omówiono też mechanizmy reakcji chemicznych i biochemicznych, które są kluczowe dla procesów produkcji wina, takich jak fermentacja, starzenie, separacje fizykochemiczne i znaczenie substancji dodatkowych. Ponadto książka zawiera studia przypadków pokazujące, w jaki sposób chemię można wykorzystać do poprawy barwy, aromatu, smaku, równowagi, stabilności i jakości wina.

Bioactive Compounds of Edible Oils and Fats - Health Benefits, Risks, and Analysis

Bioaktywne związki olejów i tłuszczów jadalnych – korzyści zdrowotne, zagrożenia i analiza

Leo M.L. Nollet, Javed Ahamad (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2024, ISBN 978-103-257-69-92, liczba stron: 332

Oleje i tłuszcze jadalne zawierają wiele prozdrowotnych związków bioaktywnych, takich jak jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe, polifenole, flawonoidy, fitosterole, witaminy wykazujących korzyści zdrowotne. Również oleje i tłuszcze jadalne są znane ze swoich możliwych zagrożeń dla zdrowia człowieka, takich jak choroba wieńcowa serca i choroby metaboliczne. Z tego względu istnieje potrzeba kontroli jakości, czystości i bezpieczeństwa olejów i tłuszczów jadalnych. W opracowaniu dokonano przeglądu różnych olejów i tłuszczów jadalnych i korzyści zdrowotnych wynikających z ich spożycia. Podjęto również tematykę zagrożeń i technik analitycznych stosowanych w celu zapewnienia jakości i bezpieczeństwa tej grupy produktów. Ponadto książka opisuje przydatność standardowych technik analitycznych, takich jak GC-FID, GC-MS i HPLC oraz najnowszych rozwiązań, takich jak LC-MS i FTIR-chemometria stosowanych w kontroli jakości olejów jadalnych i tłuszczów.

Analysis of Naturally Occurring Food Toxins of Plant Origin

Analiza naturalnie występujących toksyn spożywczych pochodzenia roślinnego

Leo M.L. Nollet, Javed Ahamad (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2024, ISBN 978-103-211-93-04, liczba stron: 282

W opracowaniu podjęto tematykę wstępowania, właściwości, identyfikacji i analizy naturalnych toksyn wytwarzanych przez organizmy roślinne. Toksyny te nie są szkodliwe dla samych organizmów je wytwarzających, ale mogą być toksyczne po spożyciu ich przez ludzi. Związki te charakteryzują się zróżnicowaną strukturą i różnią się funkcją biologiczną i toksycznością. Dobrze znane grupy naturalnych toksyn pochodzenia roślinnego to: glikozydy cyjanogenne, alkaloidy pirolizydynowe, furokumaryny, lektyny i glikoalkaloidy. Te naturalne toksyny pochodzenia roślinnego mogą powodować szereg niekorzystnych skutków zdrowotnych i stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno ludzi, jak i zwierząt gospodarskich. Opracowanie jest podzielone na trzy sekcje, zapewniające szczegółową charakterystykę różnych klas toksyn spożywczych, występujących naturalnie w roślinach oraz różne techniki analityczne sto-

sowane do ich strukturalnej charakterystyki, identyfikacji, wykrywania i kwantyfikacji. W opracowaniu omówiono także zastosowanie takich technik jak IR, NMR, spektrometria mas, różnorodne techniki chromatograficzne oraz elektroforeza kapilarna, technikę ELISA oraz biosensory wykorzystywane do charakterystyki, identyfikacji, wykrywania i ilościowego oznaczania naturalnych toksyn roślinnych w żywności.

Authenticity of Foods of Plant Origin

Autentyczność żywności pochodzenia roślinnego

Konstantinos Kotsanopoulos (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2024, ISBN 978-103-216-95-69, liczba stron: 296

Żywność jest fałszowana w celu zwiększenia zysku lub z powodu zaniedbań. Fałszowanie może zagrozić również bezpieczeństwu i jakości żywności a w konsekwencji zaszkodzić konsumentom. W związku z tym bardzo ważne jest monitorowanie, kontrolowanie i wykrywanie zafałszowań. Ze względu na ogromną różnorodność żywności pochodzenia roślinnego do wykrywania jej fałszowania wymagane są zaawansowane techniki. Książka omawia najnowsze osiągnięcia w dziedzinie autentyczności żywności pochodzenia roślinnego analizując przede wszystkim jej identyfikowalność. Opracowanie koncentruje się również na kategoriach żywności najbardziej podatnych na próby fałszowania ze względu na ich cechy, właściwości i powszechnie stosowane metody produkcji. ❀

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 34 Nr 3

wrzesień 2024

WAŻNIEJSZE KRAJOWE I ZAGRANICZNE KONFERENCJE NAUKOWE W ROKU 2024

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/>
- 12 – 13 Wrocław, **International Conference: Biotechnology– Research and Industrial Applications BRIA-2024**,
Organizatorzy: Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; Oddział Wrocławski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
Informacje: <https://enbriaconference.wordpress.com/>
- 12 – 13 Wrocław, **Międzynarodowa Konferencja "Quality and Safety in Food Production Chain"**
Organizatorzy: Katedra Rozwoju Funkcjonalnych Produktów Żywnościowych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; Oddział Wrocławski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
Kontakt: tel. +48 71 3207774; +48 71 3207781; e-mail: dffpd@upwr.edu.pl
- 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/>
- 16 – 18 Gdańsk, **XXX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne oraz III Ogólnopolską Konferencją Naukową „Żywność i żywienie w pigulce”**

Organizator: Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Informacje: <https://75lecie-katedr.gumed.edu.pl/77215.html>

19 – 20 Trzebnica – **IV Konferencja Naukowa Nauka o Zbożach „Współczesne trendy w produkcji i przetwórstwie zbóż”**

Organizatorzy: Katedra Technologii Fermentacji i Zbóż, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Oddział Wrocławski PTTŻ

Informacje: www.noz.wroclaw.pl

Kontakt: e-mail: konferencja.noz@upwr.edu.pl tel.: 71 320-77-13; 71 320 7713

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>

13 – 16 Szeged, Węgry – **12th Central European Conference on Food 2024 (CEFood 2024)**

Informacje: <https://cefood2024.hu/>

14 – 16 Bern, Szwajcaria – **World Summit on Food Science and Nutrition (WSFSN2024)**

Informacje: <https://foodscience2024.com/#About-Conference>

28 – 29 Lisbona, Portugalia – **International Conference on Food Science and Nutrition (ICFSN 2024)**

Informacje: <https://waset.org/food-science-and-nutrition-conference-in-october-2024-in-lisbon>

Listopad

4 – 5 Amsterdam, Holandia – **International Conference on Food Science and Nutrition (ICFSN2024)**

Organizator: World Academy of Science, Engineering and Technology

Informacje: <https://waset.org/food-science-and-nutrition-conference-in-november-2024-in-amsterdam>

6 – 7 Łódź, – **Konferencja Naukowa „ŻYWNOSĆ JUTRA - DZISIEJSZE WYZWANIA”**

Organizatorzy: FoodFakty – Food Safety Culture

Kontakt: summit@foodfakty.pl tel.600-972-263

- 12 – 14 Brugia, Belgia – **38th EFFoST International Conference 2024 Future Food Systems: „Innovation through Progress at Scientific Interfaces”**
Informacje: <https://effostconference.com/>
- 13 – 15 Praga, Republika Czeska – **20th International Conference on Polysaccharides and Glycoscience (20th ICPG)**
Informacje: www.polysaccharides.csch.cz
Kontakt: contact:blehar@vscht.cz
- 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
- 14 – 15 Wrocław – **XI Konferencja Naukowa z cyklu „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie” - „Nauka i praktyka w produkcji i przetwórstwie ziemniaka”**
Organizatorzy: Polskie Towarzystwo Technologów Żywności - Oddział Wrocławski, Sekcja Technologii Węglowodanów; Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności oraz Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy
Informacje: www.ziemniak.wroclaw.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

Grudzień

- 12 – 13 Praga, Republika Czeska – **36th International Conference on Food Science and Technology “Next-Gen Food Science: Unlocking Technology for a Healthier Planet”**
Informacje: <https://foodscience.foodtechconferences.com/>

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**

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 3 (140)

Kraków 2024

Vol. 31

CONTENTS

From the Editor.....	3
GABRIELA SOKOŁOWSKA, AGATA JABŁOŃSKA-TRYPUĆ, MONIKA NAUMOWICZ: Berberine - bioactive compound obtained from medicinal plants	5
ANNA PILISZEK, ADRIANNA SZPRYNCA, EMILIA BAGNICKA: Development of research in the field of bioengineering and biotechnology.....	16
MAGDALENA KARWACKA, AGNIESZKA CIURZYŃSKA, MONIKA JANOWICZ, SABINA GALUS: Marine algae – an unconventional food ingredient	38
NATALIA POLAK, STANISŁAW KALISZ, BARTOSZ KRUSZEWSKI: Continuous flow microwave pasteurization of fruit and vegetable products	55
PIOTR LALOWSKI, MARCIN KRUK, MUHAMMAD SALMAN, MONIKA TRZĄSKOWSKA: Prebiotic properties of brewer's spent grain – literature review	69
PIOTR JANISZEWSKI, DARIUSZ LISIAK, KAROL BORZUTA, EUGENIA GRZEŚKOWIAK, TOMASZ SCHWARZ, KRZYSZTOF POWAŁOWSKI, BEATA LISIAK, URSZULA SIEKIERKO, ŁUKASZ SAMARDAKIEWICZ: The effect of different amounts of triticale in pigs diet on chemical composition physical and sensory traits and on the fatty acids profile of pork meat.....	82
MICHAŁ HALAGARDA, BERNADETA PSIUK, KATARZYNA KOWA-HALAGARDA, STANISŁAW POPEK: Determining the origin of wine based on the selected quality parameters.....	94
ANITA KUKUŁOWICZ, ANNA ZBAWICKA: Safe soy: a microbiological face-off between organic and conventional tofu	106
MARTA POPIELARCZYK, MARTA CZARNOWSKA-KUJAWSKA, BEATA PASZCZYK, MAŁGORZATA STAROWICZ: The chemical, antioxidant and sensory properties of kombucha soy beverage.....	115
ANNA PLATTA, ANNA MIKULEC, MONIKA RADZYMIŃSKA, GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI: Edible insects as a potential product for achieving global food security. Part 1	129
ANNA MIKULEC, ANNA PLATTA, MONIKA RADZYMIŃSKA, GRZEGORZ SUWAŁA, MAREK ZBOROWSKI, MILLENA RUSZKOWSKA, MARCIN NOWICKI, PRZEMYSŁAW Ł. KOWALCZEWSKI: Edible insects as a potential product for achieving global food security. Part 2.....	149
JAN PIECKO, MONIKA MIESZCZAKOWSKA-FRĄC, JUSTYNA SZWEJA-GRZYBOWSKA, KAROLINA CELEJEWSKA: The effect of homogenization type on rheological properties and content of bioactive compounds in cloudy strawberry juice	171
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	186
New books.....	188
The Food Technologist.....	195

Only reviewed papers are published

Covered by: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef, EBSCO, Electronic Journal Library, JouroScope, ResearchGate

© mikelaptev - Fotolia.com



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